

ANÁLISIS FENOLÓGICO Y AEROBIOLÓGICO DE LA FAMILIA POACEAE ESTUDIO DE SU INCIDENCIA EN LA POBLACIÓN HUMANA



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

**PROGRAMA DE DOCTORADO EN
RECURSOS NATURALES Y GESTIÓN SOSTENIBLE**

2018

TESIS DOCTORAL CON MENCIÓN INTERNACIONAL

JESÚS CEBRINO CRUZ

DIRECTORES

**CARMEN GALÁN SOLDEVILLA
EUGENIO DOMÍNGUEZ VILCHES**

TITULO: *ANÁLISIS FENOLÓGICO Y AEROBIOLÓGICO DE LA FAMILIA
POACEAE. ESTUDIO DE SU INCIDENCIA EN LA POBLACION
HUMANA*

AUTOR: *Jesús Cebrino Cruz*

© Edita: UCOPress. 2019
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA, ECOLOGÍA Y FISIOLOGÍA VEGETAL
UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

TESIS DOCTORAL

**Análisis fenológico y aerobiológico de la Familia Poaceae. Estudio de su incidencia
en la población humana.**

Autor

Jesús Cebrino Cruz

Carmen Galán Soldevilla

Directores

Eugenio Domínguez Vilches

Córdoba, noviembre de 2018



TÍTULO DE LA TESIS: Análisis fenológico y aerobiológico de la Familia Poaceae.
Estudio de su incidencia en las alergias de la población

DOCTORANDO/A: Jesús Cebrino Cruz

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

Esta tesis abarca, y ese fue nuestro objetivo desde su comienzo, el estudio de aspectos ligados a la Biología Floral de Gramíneas, en especial al desarrollo floral y liberación de los granos de polen y su influencia en determinados aspectos de la salud humana.

Esta tesis aúna estudios de fenología, aerobiología y epidemiología de las alergias que han permitido la elaboración de conclusiones de alto interés, tanto para la Aerobiología pura como para la Alergología, conclusiones que se ven plasmadas en los tres artículos científicos publicados en revistas de difusión internacional, y contempladas en el *Science Citation Report* con altos niveles de impacto. El doctorando pretende con su trabajo complementar estos resultados con otros que se encuentran en fase de elaboración.

Por otro lado, la tesis se presenta como doctorado internacional por la estancia realizada en la Universidad de Évora, Portugal.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 31 de octubre de 2018

Fdo.: Eugenio Domínguez Vilches

Fdo.: Carmen Galán Soldevilla

INFORME SOBRE APORTACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL Y FACTOR DE IMPACTO DE LAS REVISTAS CIENTÍFICAS (JOURNAL CITATION REPORTS)

Publicaciones en revistas científicas (Capítulos de la Tesis).

Capítulo I de la tesis doctoral:

Cebrino, J., Galán, C., y Domínguez-Vilches, E. (2016). Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills. *Aerobiologia*, 32(4), 595-606.

Doi: 10.1007/s10453-016-9434-6

Factor de Impacto: 2,202.

Posición de la revista en relación a su categoría específica:

1. Biology: 26/85; segundo cuartil (Q2), primer tercil (T1).
2. Environmental Sciences: 99/229; segundo cuartil (Q2), segundo tercil (T2).

Capítulo II de la tesis doctoral:

Cebrino, J., García-Castaño, J. L., Domínguez-Vilches, E., y Galán, C. (2018). Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain. *International Journal of Biometeorology*, 62(4), 513-523.

Doi: 10.1007/s00484-017-1461-7

Factor de Impacto: 2,204.

Posición de la revista en relación a su categoría específica:

1. Biophysics: 44/73; tercer cuartil (Q3), segundo tercil (T2).
2. Environmental Sciences: 97/229; segundo cuartil (Q2), segundo tercil (T2).
3. Meteorology & Atmospheric Sciences: 38/85; segundo cuartil (Q2), segundo tercil (T2).
4. Physiology: 43/84; tercer cuartil (Q3), segundo tercil (T2).

Capítulo III de la tesis doctoral:

Cebrino, J., Portero de la Cruz, S., Barasona, M. J., Alcázar, P., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., y Galán, C. (2017). Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy. *Aerobiologia*, 33(2), 281-291.

Doi: 10.1007/s10453-016-9469-8

Factor de Impacto: 2,202.

Posición de la revista en relación a su categoría específica:

1. Biology: 26/85; segundo cuartil (Q2), primer tercil (T1).
2. Environmental Sciences: 99/229; segundo cuartil (Q2), segundo tercil (T2).

Comunicaciones presentadas en congresos internacionales.

Cebrino, J., García-Castaño, J. L., Domínguez-Vilches, E., y Galán, C. (2017). Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain. XVI MEDECOS & XIII AEET meeting, 31 de enero al 4 de febrero de 2017. Sevilla, España. Póster.

Cebrino, J., Barasona, M. J., Alcázar, P., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., y Galán, C. (2015). Characterization of the pollen allergic population in Cordoba (Spain). European Academy of Allergy and Clinical Immunology, 6 al 10 de junio de 2015. Barcelona, España. Póster.

Comunicaciones presentadas en congresos nacionales.

Cebrino, J., Galán, C., y Domínguez-Vilches, E. (2014). Estudio aerobiológico y fenológico de las principales especies de la familia Poaceae en la ciudad y Sierra de Córdoba. III Congreso Científico de Investigadores en Formación en Agroalimentación ceiA3 y IV Congreso Científico de Investigadores en Formación en la Universidad de Córdoba, 18 al 19 de noviembre de 2014. Córdoba, España. Comunicación oral.



European/International Mention in the Doctorate Degree

Certificate of stay

I hereby confirm that Mr. Jesus Cebrino Cruz has steadily stayed at Laboratório de Palinologia e Aerobiologia do Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas (ICAAM) da Universidade de Évora from 15 / 09 / 2015 to 15 / 12 / 2015 and has successfully developed research in activities of the research of RPA – Portuguese Aerobiology Network that is directly related with his PhD thesis in University of Cordoba.

Évora, 15 th December 2015

Researcher responsible

Dr. Elsa Caeiro

Director of ICAAM

Prof. Dr. Teresa Pinto Correia
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
E AMBIENTAIS MEDITERRÂNICAS

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis doctoral es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente, participaron distintas personas acompañándome en diversos momentos durante el desarrollo de la misma. Este trabajo me ha permitido aprovechar la competencia y experiencia de numerosas personas que deseo de corazón expresarles mis agradecimientos en este espacio. Sin más dilación, quiero dar las gracias:

A mis directores de tesis, Carmen y Eugenio, por haber confiado en mí para llevar a cabo este trabajo, por su paciencia durante todo mi desarrollo de formación y por su valiosa dirección y apoyo para llegar a cumplir este objetivo. Su capacidad de *hacer ciencia* ha sido mi fuente de motivación y curiosidad durante estos años. Quedo muy, muy agradecido a Carmen, en especial. Valoro de sobremanera cómo ha llevado y gestionado toda mi formación predoctoral. Siempre ha estado dispuesta a atenderme y de la mejor manera posible, aunque tuviera mil y una tareas en ese momento por hacer. He sido muy afortunado de estar bajo su dirección.

A todos mis compañeros/as y amigos/as del departamento, por su afecto, apoyo, y amistad. Me es imposible olvidar la cantidad de buenos momentos vividos. He tenido la suerte de convivir en el laboratorio con personas con una alta vocación por la ciencia y con un gran entusiasmo por investigar. Mi doctorado se ha hecho más ameno con el buen ambiente que se respiraba en el laboratorio y la siempre ayuda que he tenido.

A Elsa Caeiro y Raquel Ferro, por su cordialidad, ayuda y cercanía que hicieron de mi estancia doctoral unos meses inolvidables. Quedo muy agradecido por su cálida acogida y el cariño que me han manifestado desde que llegué por primera vez al laboratorio.

A María José Barasona y Carmen Moreno, por sus consejos y buenas orientaciones en el apartado de las alergias al polen. Valoro sus altos conocimientos y su inestimable ayuda durante este periodo.

A los profesores Juan Luis García Castaño, Julio Pastor Díaz y mi maestro Carlos Romero Zarco. La ayuda de Juan Luis ha sido de valor incalculable; siempre ha estado dispuesto a echarme una mano y durante las horas que hiciera falta. Con respecto a Julio, no hace falta decir la gran estima y admiración que le tengo desde que lo conocí, y siempre en mi recuerdo estará nuestras conversaciones; mención especial a sus

orientaciones y buenos consejos, que me han hecho mejor profesional y persona. Por último, que no menos importante, a Carlos. No me quiero ceñir en que solo me ha dado a conocer el mundo de las gramíneas. Valoro mucho más allá de enseñarme los entresijos de esta familia botánica tan fascinante. Él me ha visto crecer en las diferentes etapas de mi vida universitaria, desde que me acogió como alumno interno hasta la actualidad. Se ha alegrado en cada éxito mío y se ha apenado en cada infortunio. Siempre ha estado ahí y ha tenido mucha paciencia y tesón durante estos años en mi formación.

A mis amigos/as, por sus ánimos, comprensión y apoyo. A pesar de que la tesis ha robado gran parte de mi tiempo con ellos/as, han estado siempre conmigo animándome y apoyándome. Valoro a más no poder su compañía tanto en los buenos momentos como en los malos.

A Silvia, por innumerables razones. Le dedicaría párrafos y párrafos sobre lo que ha significado para mi. Desde que nuestras vidas se cruzaron por casualidad, todo cambió a mejor. Me es muy, muy complicado enumerar todo lo bueno que me ha dado y me da. Quisiera destacar su inmenso apoyo, ayuda, comprensión, escucha activa, compañía... su amor. Soy realmente muy afortunado de que comparta su vida conmigo. A nivel profesional, no solo me enseñó sus altos conocimientos en metodología de la investigación, sino que me acrecentó las ganas de investigar y me dio unas alas para que volara muchísimo más lejos.

A mis padres y mi hermana, por todo. Soy como soy gracias a ellos. Siempre han creído en mi y han confiado en mis capacidades. Nunca han dudado de que podía conseguir este sueño. Y este sueño finalmente se ve cumplido. Quisiera destacar que esta tesis no hubiera sido posible sin ellos. Desde siempre y, en especial, durante este periodo han sido mi fortaleza en momentos de debilidad, han sido mi fuente de motivación a seguir luchando por mis objetivos y han sido mi ejemplo a seguir en la vida. Siempre me han dado su apoyo y sus ganas de que siga adelante. Me han brindado una vida llena de aprendizajes, experiencia y felicidad.

A Dios, por haber puesto a cada uno de ellos/as en mi camino. Mi mayor reconocimiento y gratitud.



0. INDICE

1. RESUMEN	3
1.1. Abstract	7
2. INTRODUCCIÓN	13
2.1. Contexto de la tesis doctoral	13
2.2. Familia Poaceae	14
2.2.1. Sistemas florales	16
2.3. Fenología.....	17
2.3.1. Estudios fenológicos en gramíneas.....	19
2.4. Aerobiología	21
2.4.1. Respuesta fenológica y del contenido de polen en el aire a los factores meteorológicos	23
2.5. Alergias al polen	25
2.5.1. Granos de polen como vectores responsables de alergias	27
2.5.1.1. Alergia al polen de gramíneas	30
2.5.1.2. Alergia al polen de olivo	31
2.5.1.3. Alergia al polen de plátano de sombra	32
2.5.1.4. Alergia al polen de Urticaceae	33
3. OBJETIVOS	37
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
4.1. Área de estudio	41
4.2. Vegetación	41
4.3. Climatología.....	42
4.4. Método fenológico en gramíneas.....	43
4.5. Método aerobiológico	45
4.6. Análisis estadístico.....	47
5. CAPÍTULO I.....	51
<i>Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills.</i>	
5.1. Abstract	51
5.2. Introduction.....	51
5.3. Materials and methods	52
5.3.1. Study area	52
5.3.2. Aerobiological data.....	52

5.3.3. Meteorological data	52
5.3.4. Phenological data.....	52
5.3.5. Statistical analysis	53
5.4. Results.....	53
5.4.1. Aerobiological data.....	53
5.4.2. Meteorological data	53
5.4.3. Phenological data.....	53
5.5. Discussion	56
5.6. Conclusions.....	61
5.7. Acknowledgements	61
5.8. References	61
6. CAPÍTULO II.....	65
<i>Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain.</i>	
6.1. Abstract	65
6.2. Introduction.....	65
6.3. Materials and methods	66
6.3.1. Study area	66
6.3.2. Plant cover	66
6.3.3. Species and phenological observation.....	66
6.3.4. Meteorological data	68
6.3.5. Statistical analysis	68
6.4. Results.....	68
6.4.1. Meteorological results	68
6.4.2. Plant cover and species composition.....	70
6.4.3. Flowering start date	70
6.4.4. Flowering phenological length	71
6.5. Discussion	72
6.6. Conclusions.....	74
6.7. Acknowledgements.....	74
6.8. References	74

7. CAPÍTULO III	79
<i>Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy.</i>	
7.1. Abstract	79
7.2. Introduction.....	79
7.3. Materials and methods	80
7.3.1. Study area	80
7.3.2. Subject population	81
7.3.3. Symptoms and medication surveys	81
7.3.4. Airborne pollen.....	81
7.3.5. Statistical analysis	81
7.4. Results.....	81
7.4.1. Airborne pollen and sensitive population.....	81
7.4.2. Subjects suffering symptoms and using medicaments	82
7.4.3. Meteorological results	82
7.4.4. Airborne pollen <i>versus</i> symptoms	82
7.4.5. Association between medication and symptoms	83
7.5. Discussion	83
7.6. Conclusions.....	87
7.7. Acknowledgements.....	87
7.8. References.....	87
8. DISCUSIÓN	93
9. CONCLUSIONES	101
9.1. Conclusions.....	103
10. BIBLIOGRAFÍA	107
11. ANEXOS	135



1. RESUMEN

RESUMEN

La fenología estudia los eventos biológicos recurrentes en plantas y animales, y su relación con las variaciones del clima (Schwartz 2013). La fenología vegetal es considerada como un excelente instrumento para detectar y medir el impacto del clima sobre la vegetación, permitiendo estudiar los fenómenos biológicos observables que constituyen cambios o transformaciones en las poblaciones en un determinado periodo de tiempo (Rötzer *et al.* 2000). Hoy en día, los estudios sobre el contenido de polen en el aire ofrecen la oportunidad de evaluar la fenología floral de especies anemófilas, como ejemplo, en Poaceae. Esta familia botánica se encuentra ampliamente diversificada y es considerada como uno de los taxones más importantes del Reino Plantae (Watson & Dallwitz 1992), tanto por su interés ecológico como en salud, ya que su polen se presenta como la principal causa de polinosis en la población europea (D'Amato *et al.* 2007; Burbach *et al.* 2009; Frati *et al.* 2010).

En España, varios estudios sobre fenología floral en distintas especies de la familia Poaceae, a través de observaciones de campo, han mostrado que solo algunas de ellas contribuyen sustancialmente a la curva polínica (León-Ruiz *et al.* 2011; Tormo *et al.* 2011; Romero-Morte *et al.* 2018), teniendo en cuenta que las distintas especies de gramíneas cuentan con polen de morfología similar, incluyéndose en el mismo tipo polínico (Erdtman 1986; Perveen 2006; Trigo *et al.* 2008). Sin embargo, a la vista de la bibliografía consultada, poca atención se ha prestado al comportamiento fenológico de diferentes poblaciones que habitan en distintas coberturas vegetales, o la incidencia que causan los granos de polen entre la población, especialmente en Andalucía.

El objetivo principal de este trabajo se ha dirigido hacia el comportamiento fenológico de las especies de la familia Poaceae y su incidencia en la población humana. Los objetivos específicos han sido: capítulo I, evaluar el comportamiento fenológico de las especies de la familia Poaceae en los diferentes tipos de cobertura vegetal (matorral, ribera y pastizal) en la ciudad de Córdoba y las colinas cercanas de Sierra Morena durante la primavera, crear un calendario fenológico de las principales especies de Poaceae que crecen en Córdoba y analizar las concentraciones de polen de Poaceae en la atmósfera de Córdoba, indicando cuáles son las especies que más contribuyen a la curva polínica; capítulo II, estudiar la composición de la comunidad de gramíneas en diferentes tipos de coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal) y evaluar la influencia de las distintas especies, la

cobertura vegetal y el año de estudio sobre el inicio y la duración de la floración de las gramíneas; capítulo III, determinar la relación entre la cantidad de polen en el aire y su incidencia en las alergias al polen e investigar el uso de fármacos que permiten aliviar los diversos síntomas que muestran los sujetos alérgicos al polen.

En el capítulo I se ha evaluado el comportamiento fenológico de las especies primaverales de la familia Poaceae en diferentes tipos de coberturas vegetales en la ciudad de Córdoba y colinas próximas de Sierra Morena, elaborando un calendario fenológico de las principales especies y analizando las concentraciones de polen de Poaceae, e indicando cuáles son las especies que más contribuyen a la curva polínica. Este estudio se llevó a cabo entre los años 2000 y 2013. Se escogieron diecisiete puntos de muestreo en la sierra y la ciudad de Córdoba que representan las diferentes coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal). La toma de datos fenológicos se realizó con una periodicidad semanal en cada punto de muestreo. Se realizaron observaciones fenológicas utilizando la escala BBCH (Meier 2001). El muestreo aerobiológico se llevó a cabo con un captador volumétrico de succión tipo Hirst (Hirst 1952). Se aplicó un análisis estadístico descriptivo e inferencial. Los resultados obtenidos pusieron de manifiesto que algunas especies, como *Hordeum leporinum* y *Stipa capensis*, sufrieron un retraso fenológico en pastizal y *Bromus madritensis* tanto en pastizal como en ribera y matorral, durante los años de estudio. En cambio, la tendencia en *Dactylis glomerata* y *Trisetaria panicea* fue hacia un adelanto en matorral conforme pasan los años. Por otro lado, *Arrhenatherum album*, *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Vulpia geniculata* son las especies que posiblemente más contribuyen a la curva polínica en Córdoba.

En el capítulo II se estudió la composición de la comunidad de gramíneas en los tipos de cobertura vegetal anteriormente mencionados y se evaluó la influencia de las distintas especies, la cobertura vegetal y el año de estudio sobre el inicio y la duración de la floración de las gramíneas. Este estudio se llevó a cabo durante los años 2014 y 2015. Se escogieron veintinueve puntos de muestreo diferentes de la sierra y la ciudad de Córdoba, que representaron las diferentes coberturas vegetales. La toma de datos fenológicos se realizó con una periodicidad semanal en cada punto de muestreo. Se realizaron observaciones fenológicas utilizando la escala BBCH (Meier 2001). Los datos obtenidos se analizaron mediante un análisis discriminante y modelos lineales generalizados mixtos (GLMMs). Como resultado, se observaron diferencias en la composición de las especies de gramíneas entre las diferentes coberturas vegetales, siendo

el matorral la cobertura vegetal que mostró una mayor diversidad de especies con respecto al pastizal y la ribera. Por otro lado, algunas especies como *Hyparrhenia hirta* y *Bromus diandrus* tuvieron una floración más temprana en comparación con *Brachypodium distachyon* y *Piptatherum miliaceum*, dos de las más tardías durante estos años de estudio. En general, se observó que en pastizales el inicio de floración fue más temprano que en riberas y matorrales. Asimismo, existieron diferencias significativas en la duración de la floración de algunas especies, siendo *Aegilops triuncialis* la especie con duración más corta e *Hyparrhenia hirta* con duración más larga.

El capítulo III se determinó la relación entre la cantidad de polen en el aire y su incidencia en las alergias al polen, así como sobre el uso de fármacos para tratar los síntomas mostrados por los sujetos alérgicos al polen. Para ello, se realizó un estudio prospectivo longitudinal en la ciudad de Córdoba durante los años 2014 y 2015, utilizando un cuestionario original y específico para la toma de datos sociodemográficos, de síntomas de alergia al polen y de dichos fármacos. El muestreo aerobiológico se llevó a cabo con un captador volumétrico de succión tipo Hirst (Hirst 1952). Se aplicó un análisis estadístico descriptivo e inferencial. Los resultados han mostrado un alto porcentaje en la prevalencia de alergia al polen de olivo y gramíneas, siendo la rinitis alérgica el síntoma más frecuente. Asimismo, se ha observado una correlación significativa entre la incidencia de este síntoma y el consumo de antihistamínicos. Por otra parte, los resultados han confirmado que sujetos asmáticos usaron sobre todo inhalador; relacionándose el uso de colirios para los ojos con los síntomas de rinitis alérgica y conjuntivitis.

Con esta tesis se ha llevado a cabo el seguimiento de distintas especies de gramíneas, sin embargo, solo algunas de ellas han mostrado diferentes tendencias fenológicas en las distintas coberturas vegetales que habitan durante los años de estudio. Por otro lado, solo algunas especies contribuyen a la curva polínica, siendo estas especies las principales responsables de los síntomas de polinosis en Córdoba.

ABSTRACT

Phenology studies recurring biological events in plants and animals, and their relationship with climate variations (Schwartz 2013). Plant phenology is considered an excellent tool to detect and measure the impact of climate on vegetation, enabling to study the observable biological phenomena that constitute changes or transformations in populations in a certain period of time (Rötzer *et al.* 2000). Nowadays, studies on airborne pollen offer the opportunity to evaluate the floral phenology in anemophilous species, such as in Poaceae. This botanical family is widely diversified and belongs to one of the most important taxa in the Plantae Kingdom (Watson & Dallwitz 1992), with interest on both, ecology and health, being the main cause of pollinosis in the European population (D'Amato *et al.* 2007; Burbach *et al.* 2009; Frati *et al.* 2010).

In Spain, some studies on phenological field observations in different species of Poaceae have shown that only some of them more contribute to the pollen curve (León-Ruiz *et al.* 2011; Tormo *et al.* 2011; Romero-Morte *et al.* 2018), because of pollen from different species have similar morphology, and they are included in the same pollen type (Erdtman 1986; Perveen 2006; Trigo *et al.* 2008). However, according to the reviewed literature, low attention have been paid to the phenological behavior of different populations that live in different plant cover, neither to the level of risk that pollen grains cause on the population, especially in Andalusia.

The main goals of this thesis have been focused on the study of the phenological behavior of Poaceae and its incidence in the human population. The specific goals have been: chapter I, to monitor the phenological behavior of Poaceae species in different plant covers (scrub, riverbank and pasture) in Córdoba City and peri-urban area in spring, to create a phenological calendar of the main Poaceae species; and to analyze local Poaceae airborne pollen concentrations, indicating which species contribute most to the curve; chapter II, to study the grass community composition in different plant covers and to assess the influence of plant cover, species and study year on the start and duration of flowering; chapter III, to examine the relationship between airborne pollen and allergies, and to investigate the use of drugs to treat the various symptoms displayed by pollen-allergy sufferers over the study period.

In chapter I, the phenological behavior of different Poaceae species flowering during spring was evaluated in different plant covers in Córdoba City and the nearby hills

of Sierra Morena, a phenological calendar of the major species was created and the airborne Poaceae pollen concentrations were analyzed, indicating which species more contribute to the curve. This study was carried out between 2000 and 2013. Seventeen sampling site were selected in Córdoba City and the nearby hills of Sierra Morena, representing the different plant covers (scrub, riverbank and pasture). Phenological monitoring was carried out weekly in each sampling sites. Phenological stage observations were using the BBCH scale (Meier 2001). Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap (Hirst 1952). Descriptive and inferential statistical analysis was applied. Results showed that some species, such as *Hordeum leporinum* and *Stipa capensis* displayed a phenological delay in pasture and *Bromus madritensis* in pastureland, riverbank and scrubland over the study period. In contrast, *Dactylis glomerata* and *Trisetaria panicea* displayed a phenological advance. On the other hand, *Arrhenatherum album*, *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* and *Vulpia geniculata* are possible contributors to the pollen curve in Córdoba.

In chapter II, the composition of the grass community was studied in the plant covers mentioned above, as well as the influence of the different species, the plant cover and the study year on the flowering start and length of grasses. This study was carried out during 2014 and 2015. Twenty-nine sampling sites, which represented the three different plant covers, were selected from Córdoba City and the nearby hills. Phenological monitoring was carried out weekly in each sampling site. Phenological stage observations were taken by using the BBCH scale (Meier 2001). Data were analyzed by means of a binary discriminant analysis and generalized linear mixed models (GLMMs). Results showed differences in the grass community composition as a function of plant cover; scrub comprised a considerably larger number of species than those in riverbank and pasture. On the other hand, some species, such as *Hyparrhenia hirta* and *Bromus diandrus* are early flowering, and some others, such as *Brachypodium distachion* and *Piptatherum miliaceum*, are late flowering in spring. In general, flowering in pasture was earlier than in riverbank and scrub. On the other hand, significant differences in flowering length of some species were obtained, i.e. *Aegilops triuncialis* with the shortest length and *Hyparrhenia hirta* with the longest length.

Chapter III examined the relationship between airborne pollen and the occurrence of pollen allergies, as well as to study the use of drugs to treat symptoms on pollen-allergy sufferers. A prospective longitudinal study was conducted in Córdoba City

in 2014 and 2015, using an original and specific questionnaire to collect socio-demographic, symptoms and pollen-allergy data. Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap (Hirst 1952). Descriptive and inferential statistical analysis was applied. Results showed a high percentage in the prevalence of allergy to olive and grass pollen; allergic rhinitis was the most frequent symptom. Moreover, significant correlation has been observed between the occurrence of these symptoms and the antihistamine consumption. On the other hand, results confirmed that asthmatic subjects used mostly inhaler; and in the case of rhinitis and conjunctivitis mostly eye drops.

This thesis has been focused on different grass species, but only some of them have shown different phenological trends in different plant covers during the study years. On the other hand, only some species more contribute to the pollen curve, being these species the principal responsible of pollinosis in Córdoba.



2. INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

2.1. Contexto de la tesis doctoral.

La presente tesis doctoral se centra en el estudio fenológico de distintas especies de gramíneas que habitan en la ciudad de Córdoba y Sierra Morena, el contenido de polen en el aire en la atmósfera de Córdoba de las especies de esta familia botánica, así como la incidencia de alergia al polen de gramíneas y otros granos de polen en la población.

La familia Poaceae habita en una amplia gama de ecosistemas (Lee *et al.* 2014). Hoy en día, se cuenta con pocos estudios sobre el comportamiento fenológico de las distintas especies en España, a pesar de que se trata de un grupo de plantas muy importante desde el punto de vista ecológico (León-Ruiz *et al.* 2011, 2012; Tormo *et al.* 2011), siendo considerado su polen como la principal causa de polinosis en Europa (D'Amato *et al.* 2007; Burbach *et al.* 2009; Frati *et al.* 2010) y, en particular, en la Península Ibérica (Subiza 2003). En este sentido, numerosos estudios se han enfocado en el estudio sobre la polinosis de la familia Poaceae en España (Domínguez-Vilches *et al.* 1995; Subiza *et al.* 1995; Belmonte *et al.* 1998; Sánchez-Mesa *et al.* 2003, 2005; Feo-Brito *et al.* 2010), siendo considerada como una de las primeras causas de alergia al polen en la provincia de Córdoba (Sánchez-Mesa *et al.* 2005). Por estos motivos, se pretende ampliar estos conocimientos en las diferentes disciplinas referidas a la familia Poaceae.

En un primer estudio se ha examinado el comportamiento fenológico de las principales especies de Poaceae presentes en la ciudad de Córdoba y Sierra Morena (España) en diferentes coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal), así como se ha creado un calendario fenológico de las principales especies de gramíneas presentes en Córdoba. Asimismo, se ha analizado la concentración de polen en el aire de las especies de esta familia botánica, indicando cuáles son las que más contribuyen a la curva polínica, es decir, la representación gráfica lineal de la evolución de la concentración polínica durante un determinado período de tiempo. Para ello, se han llevado a cabo tanto observaciones de campo, actualizando la base de datos histórica de trece años sobre la fenología de la reproducción de distintas especies de gramíneas, así como sobre el contenido de granos de polen en el aire; datos proporcionados por el grupo de investigación de Botánica Sistemática y Aplicada, RNM-130, de la Universidad de Córdoba.

En un segundo estudio se han evaluado, durante dos años de estudio, la fenología y los patrones espaciales de treinta especies de gramíneas que presentaran al menos 30 individuos/m² en los puntos de muestreos de las diferentes coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal). Además, se ha estudiado la composición de la comunidad de gramíneas en dichas coberturas vegetales, así como la influencia de las distintas especies, las coberturas vegetales y el año de estudio sobre el inicio y la duración de la floración.

El tercer estudio se ha realizado en colaboración con la Unidad de Alergología del Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba, España). Para ello, se ha estudiado la concentración polínica y la incidencia de alergias al polen de gramíneas y otros granos de polen en la población y se ha investigado el uso de fármacos y síntomas alérgicos por parte de sujetos alérgicos al polen. De esta forma, se ha pretendido conocer el lugar que ocupan los granos de polen de gramíneas en los casos de riesgo de alergia en Córdoba. Por lo tanto, además de los granos de polen de gramíneas, se han estudiado otros causantes de alergia, como es el caso del olivo (Alergológica 2005; D'Amato *et al.* 2007), plátano de sombra (Alcázar *et al.* 2004; Iglesias *et al.* 2007), parietaria (Recio *et al.* 2009) y otros tipos de polen que causan alergias entre la población (Luengo & Cadahía 2003; Velasco-Jiménez *et al.* 2013).

2.2. Familia Poaceae.

La familia Poaceae, o Gramíneas, comprende 771 géneros con aproximadamente 12000 especies a nivel mundial (Soreng *et al.* 2015). Las gramíneas se consideran como una de las principales familias de plantas con flor, solo superada en diversidad de especies por Asteraceae, Fabaceae, Orchidaceae y Rubiaceae (Devesa & Carrión 2012). La importancia de este taxón no solo radica en su número de especies anuales y perennes, sino en el papel ecológico que juegan en grandes formaciones de herbáceas, llegando a cubrir casi el 25% de la superficie de la Tierra (Watson & Dallwitz 1992). Esta familia tiene, además, un importante interés, tanto por su tradicional uso agrícola como por ser un componente esencial de la flora de pastizales (Figura 1). Su distribución es cosmopolita. En este sentido, se estima que más de un cuarto de la superficie terrestre mundial tiene pastizales formados principalmente por gramíneas como vegetación natural potencial (Blair *et al.* 2014).

En estudios previos se ha observado que la floración de las diferentes especies se efectúa prácticamente a lo largo de todo el año; sin embargo, la mayoría florece de marzo a julio

en la región mediterránea (González-Minero *et al.* 1998; Latorre & Belmonte 2004), sufriendo variaciones interanuales dependiendo de las condiciones meteorológicas (Fernández-González *et al.* 1999; León-Ruiz *et al.* 2011). La duración e intensidad de la estación polínica varía entre regiones, debido a diferencias en la vegetación, uso del suelo, latitud, altitud y clima (García-Mozo *et al.* 2009, 2016).



Figura 1. Pastizal de Arroyo Rabanales (Córdoba, España).
Fuente: elaboración propia.

Esta familia botánica muestra una gran diversidad de sistemas reproductivos, lo que está en gran concordancia con el enorme número de especies que la integra (Connor 1979). En gramíneas anuales, todo el ciclo de vida se completa dentro de un año (Battey 2000). Por otro lado, estas especies anuales y algunas perennes tienen como único requerimiento para florecer la existencia de un periodo de días largos; sin embargo, para que se lleve a cabo la floración de la mayoría de las gramíneas perennes son necesarias temperaturas bajas o días cortos, seguidos de días largos de transición para la iniciación floral (Heide 1994). Según Volaire & Norton (2006), la mayoría de las gramíneas perennes que habitan en la región mediterránea florecen en primavera, seguido de una cierta inactividad en el verano provocada por días más largos y temperaturas más cálidas.

Las gramíneas se encuentran, además, entre las plantas de mayor éxito evolutivo, pudiendo ocupar ambientes adversos gracias a la gran flexibilidad que poseen, por ejemplo, en sus sistemas reproductores, pudiendo variar mucho dependiendo de las condiciones meteorológicas durante el desarrollo de la inflorescencia (Evans 1964). Se podría decir que el éxito de las gramíneas está relacionado principalmente con su capacidad de adaptación a diferentes hábitats, así como su capacidad para coexistir con los herbívoros y los seres humanos, además de la versatilidad y variabilidad de sus formas biológicas (Shantz 1954; Clayton & Renvoize 1986).

En general, se puede afirmar que el principal vector de polinización de las gramíneas es el viento (anemofilia), aunque existen algunas especies que son entomófilas, o se comportan como cleistógamas (Adams *et al.* 1981). La anemofilia está basada en un mecanismo de dispersión indiscriminado. Por esta razón, estas plantas presentan un «síndrome de anemofilia» que se puede considerar como una serie de estrategias compensatorias (Faegri & van der Pijl 1979). La anemofilia y otros factores permitieron la colonización de esta familia de plantas en todos los continentes (Linder *et al.* 2017).

2.2.1. Sistemas florales.

Las características anatómicas de la familia Poaceae resultan de extraordinaria importancia en su delimitación taxonómica (Ellis 1987) (Figura 2). Según Valdés *et al.* (1987), las gramíneas poseen una inflorescencia en espiga, racimo o panícula de espiguillas (espigas simples que constituyen su unidad estructural). Estas inflorescencias se encuentran en una espiguilla de eje articulado (raquilla). Las espiguillas poseen una o numerosas flores y dos brácteas (glumas) en la base, rara vez con una sola gluma, o aún más raro, con glumas sustituidas por pelos o ausentes. Las flores tienen dos bractéolas basales: la inferior (lema) generalmente herbácea o coriáceas, frecuentemente aristada; la superior (pálea) generalmente membranácea o hialina, normalmente con dos quillas. El periantio está formado por dos, o rara vez tres, escamas pequeñas (lodículas) libres o soldadas, a veces ausentes. El andróceo posee de 1 a 3 (o 6) estambres de filamentos largos en las flores casmógamas y con anteras medifijas. El ovario es súpero, unicarpelar, con un primordio seminal y 2 (-3) estigmas plumosos.



Figura 2. Características anatómicas de *Bromus diandrus* Roth.
a) Detalle de la inflorescencia, b) Lígula, c) Raíces, d) Ovario.
Fuente: José León Alcón Cáceres.

El fruto de las gramíneas es una cariósipide, fruto seco indehisciente, con el pericarpio soldado a la semilla formando una envoltura muy delgada. Esta envoltura encierra al embrión en la parte inferior –visto de forma dorsal- y al endosperma (Werker 1997).

2.3. Fenología.

Las observaciones fenológicas permiten identificar la dinámica de la floración, fructificación, dispersión de semillas, germinación, así como el estado vegetativo y brote de yemas (Bello-González 1988). El término «fenología» deriva de la palabra griega «phaino», que significa aparecer, y «logos», ciencia (Morren 1849, 1853).

Existen registros antiguos de observaciones fenológicas de la cereza por parte de la corte real en Kioto datados en el año 705 a.C., aunque las primeras observaciones fenológicas de forma sistemática y continuada no se registran hasta el siglo XVIII (Menzel 2002). Durante ese siglo, empezaron a aparecer los llamados «calendarios de las estaciones», donde se ordenaban todo este tipo de sabiduría popular y, finalmente, se empezó a observar y registrar de forma periódica los sucesos fenológicos (Lechowicz 2001). En su obra *Philosophia Botanica*, Carl von Linné (en adelante, Linneo) (1751) describió

métodos para realizar calendarios anuales de desarrollo de hojas, fructificación y sus relaciones con la climatología. Linneo creó la que se podría considerar como primera red fenológica popular, con un total de 18 estaciones en Suecia y Finlandia, que funcionó durante tres años (1750-1752). Por este motivo, Linneo es considerado como el padre de la fenología moderna (Koch 2010).

Durante la segunda mitad del siglo XIX se creó la primera red fenológica organizada por parte de Lambert Adolphe Jacques Quetelet (1796-1874), director del Observatorio Astronómico Real de Bélgica. En esta red participaron observadores de varios países (Alemania, Bélgica, Francia, Holanda, Inglaterra, Italia y Suiza), llegándose a recopilar información de unas 80 estaciones durante treinta años (1840-1870) (Demarée & Chuine 2006). De forma paralela, el botánico belga Charles Morren (1807-1858) trabajó de forma activa sobre el estudio de los períodos florales usando términos como «*fenómenos periódicos*» y «*antrocronología*». Fue él mismo quien usó, por primera vez, el término «*fenología*» en una conferencia, y cuatro años más tarde, lo utilizó por primera vez en un artículo científico (Morren 1849, 1853). Quetelet promovió observaciones fenológicas para documentar todos los fenómenos físicos y biológicos en la naturaleza, aunque Charles Morren se centró en la fisiología vegetal (Demarée & Rutishauser 2009). Con el fin de unificar las observaciones de los investigadores europeos y crear una red mundial de observatorios fenológicos, el director del Observatorio Meteorológico de Viena, Karl von Fritsch, publicó unas instrucciones, fundadas en las previamente redactadas por Quetelet, y las propuso en el Congreso Internacional de Estadística en Londres de 1860 (De Cara 2006; Koch 2010). Sin embargo, aunque estas normas fueron aceptadas, no se llegaron a utilizar (Schnelle, 1955).

En España, Miguel Merino, director del observatorio astronómico de Madrid, fue el responsable de los primeros intentos de realizar observaciones fenológicas en 1883 (De Cara & Mestre 2006). Diez años más tarde, Hermenegildo Gorriá Gollán, director de la Granja Experimental de Barcelona, realizó las primeras observaciones fenológicas a través del observatorio meteorológico en 1893 (De Cara 2008). No obstante, no fue hasta mediados del siglo XX cuando el Servicio Meteorológico Nacional (SMN) –AEMET, en la actualidad-, iniciara las observaciones fenológicas a través una red de colaboradores y un método normalizado, con el objetivo de construir un mapa fenológico de España (De Cara 2008). En 1942, José Batista Díaz distribuye unas instrucciones tituladas «*Las observaciones fenológicas, indicaciones para su implantación en España*» (Batista-Díaz

1942). Un año más tarde, este mismo meteorólogo, publica el «*Atlas de plantas para las observaciones fenológicas*» (Batista-Díaz 1943). Desde 1958, el Instituto Nacional de Meteorología (INM), actualmente la AEMET, publica de forma regular el Calendario Meteorológico como complemento a la descripción climática del año agrícola, contando con datos fenológicos de más de ochenta especies, tanto animales como vegetales.

En 1953, Huguet del Villar definió el concepto de fenología en el diccionario de botánica de Pius Font i Quer (1953), como el *estudio de los aspectos que se suceden en la vegetación de una especie o de una sinecia –cohábitat de una suma de individuos vegetales en un mismo medio exterior-; prácticamente se aplica a esta sucesión en sí misma. La fenología de una especie depende de su propia idiosincrasia y del ciclo de dinamismo del medio, sobre todo y más generalmente del ciclo climático. La fenología de una sinecia depende, no solo de la naturaleza de sus componentes y del dinamismo del medio, sino de la influencia recíproca entre los componentes: así, en un bosque caducifolio, el período afilo ofrecerá un medio favorable al desarrollo de las plantas heliófilas*. A partir de ese año, surgieron diversas definiciones de fenología. Por ejemplo, Lieth (1974) apuntó que esta disciplina se define como el estudio de los fenómenos biológicos que se repiten periódicamente en el tiempo, de los factores bióticos y abióticos que los causan y la interrelación entre estos fenómenos y una misma especie o varias. Por su parte, Menzel & Estrella (2001) apuntaron que la fenología es la ciencia de la actividad estacional de las plantas y animales condicionada por factores ambientales. Recientemente, Schwartz (2013) definió la fenología como el estudio de eventos biológicos recurrentes y su relación con las variaciones del clima.

2.3.1. Estudios fenológicos en gramíneas.

Los estudios fenológicos representan una ciencia principalmente descriptiva que requiere una observación directa del ciclo de vida anual de las especies (Menzel 2002). La fenología es, además, un excelente instrumento para detectar y medir el impacto del clima sobre la vegetación, ya que se pueden estudiar los fenómenos biológicos observables que constituyen cambios o transformaciones en los individuos en un determinado periodo de tiempo denominados fases fenológicas o fenofases (Rötzer *et al.* 2000).

Los estudios en fenología poseen múltiples aplicaciones en diversos campos científicos, como en ciencias agrícolas, forestales y en salud humana, entre otros (Schwartz 2013; Davies *et al.* 2015). Algunos estudios han demostrado recientemente que la expresión

fenológica funciona como un excelente bioindicador de los efectos de cambio climático (Menzel 2000; Gordo & Sanz 2010; García-Mozo *et al.* 2010; Gremer *et al.* 2015) debido a su impacto en una clara respuesta en plantas y animales. De hecho, existen numerosas pruebas de que el cambio climático parece estar afectando a los ecosistemas y taxones en aspectos críticos de sus sistemas biológicos (Aerts *et al.* 2006; Cleland *et al.* 2006; Walker *et al.* 2006; Wipf 2010; Munson *et al.* 2013). Asimismo, la fenología posee un valor añadido a la hora de presentarla como ciencia que permite calibrar y evaluar la información obtenida por los satélites Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), o por su importancia como variable ecológica (Tucker *et al.* 2001; Chen *et al.* 2001; Bradley *et al.* 2011).

En la actualidad, se llevan a cabo numerosos estudios fenológicos en diferentes especies de plantas superiores en América (Beaubien & Johnson 1994; Abu-Asab *et al.* 2001; Schwartz *et al.* 2006; White *et al.* 2009; Morellato *et al.* 2013), Asia (Tao *et al.* 2006; Primack *et al.* 2009; Ma & Zhou 2012; Xiao *et al.* 2013) y Europa (Menzel & Fabian 1999; Menzel 2000; Rötzer & Chmielewski 2001; Chmielewski & Rötzer 2001; Menzel *et al.* 2001, 2006; Orlandi *et al.* 2007; Gordo & Sanz 2009; Cook *et al.* 2012). En España se han realizado estudios fenológicos en distintas especies de plantas leñosas (Milla *et al.* 2010; Gordo & Sanz 2010), en especial en olivo (Oteros *et al.* 2013; Rojo & Pérez-Badía 2014; García-Mozo *et al.* 2015), *Quercus* (Jato *et al.* 2002b, 2007; Gómez-Casero *et al.* 2007; García-Mozo *et al.* 2012), y *Pistacia* (Montserrat-Martí & Pérez-Rontomé 2002; Palacio *et al.* 2005; Velasco-Jiménez *et al.* 2015). Varios estudios se han realizado en especies herbáceas; aunque son de destacar los realizados en distintas especies de gramíneas, como los de Frenguelli *et al.* (2010), Tormo *et al.* (2011), León-Ruiz *et al.* (2011, 2012), Kmenta *et al.* (2016), Ghitarrini *et al.* (2017) y Romero-Morte *et al.* (2018). Estos estudios han tratado de comparar el comportamiento fenológico de la floración con el contenido de polen en el aire. En Italia, Frenguelli *et al.* (2010) hallaron diferencias entre las concentraciones de polen en el aire y la floración de las gramíneas en el norte, centro y sur de este país, donde solo algunas especies –como *Dactylis glomerata* L.- contribuyeron al día pico de polen de la curva polínica, mientras otras especies –como *Cynodon dactylon* (L.) Pers.- contribuyeron de forma relevante a la curva pero fuera del día pico. En el centro de Italia, Ghitarrini *et al.* (2017) encontraron que las especies que más contribuyeron a la curva polínica, en orden fenológico de floración, son: *Dactylis glomerata*, *Poa trivialis* L. y *Lolium perenne* L. durante la primavera y principios de

verano, y *Cynodon dactylon* a finales de verano. En Viena (Austria), las siguientes especies fueron las que más contribuyeron a la curva polínica, en orden fenológico de floración: *Poa pratensis* L. y *Dactylis glomerata*, que florecieron a principios de mayo hasta mediados de junio, *Arrhenatherum elatius* (L.) J. Presl & C. Presl y *Festuca* spp., que florecieron a mediados de mayo hasta finales de junio, y *Lolium perenne*, que floreció desde principios de junio hasta principios de agosto (Kmenta *et al.* 2016). En España, Tormo *et al.* (2011) observaron en Badajoz diferencias entre los datos fenológicos y aerobiológicos, en particular, la emisión del polen y su presencia en la atmósfera debido al comportamiento fenológico de las especies de estudio. En este sentido, Romero-Morte *et al.* (2018) mostraron en Toledo que la emisión del polen de las especies de floración tardía –como *Arrhenatherum album* (Vahl) Clayton, *Dactylis glomerata* subsp. *hispanica* (Roth) Nyman, *Lolium rigidum* Gaudin y *Trisetaria panicea* (Lam.) Paunero- coincidieron con las concentraciones máximas de granos de polen en el aire. Finalmente, León-Ruiz *et al.* (2011) mostraron en Córdoba distintos comportamientos fenológicos dependiendo de la meteorología y la altitud, donde el estadio más largo de floración se registró en un año más frío y húmedo, en contraposición con los años más cálidos y secos con un comportamiento fenológico más corto. Además, las poblaciones de gramíneas a menor altitud florecieron antes que las de altitudes más altas. Por último, estos autores observaron que cuatro especies de gramíneas –*Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Vulpia geniculata* (L.) Link- fueron las que más contribuyeron a la curva polínica de esta familia. Asimismo, León-Ruiz *et al.* (2012) comprobaron que a partir de los puntos de muestreo escogidos y el uso de técnicas geoestadísticas se pueden obtener mapas fenológicos válidos, para el estudio de la variabilidad espacial de la fenología floral de Poaceae, como por ejemplo de *Vulpia geniculata*.

2.4. Aerobiología.

El término «*Aerobiología*» fue acuñado en los años 30 por Fred C. Meier para describir fundamentalmente las bacterias aéreas (Gregory 1973). Años posteriores, Edmonds & Benninghoff (1973) definieron «*Aerobiología*» como la ecología de la atmósfera, lo que significa que su objetivo se dirige al estudio de toda la diversidad de partículas biológicas aerovagantes e incluye además los procesos de liberación, emisión, dispersión, deposición e impacto de las mismas.

La Aerobiología se convirtió en una disciplina objeto de análisis y discusión en numerosos foros, donde se llegaron a organizar diferentes asociaciones para compartir ideas, unificar criterios y divulgar los trabajos (Iglesias-Otero 2013). Por su parte, España no estuvo ajena al interés que atrajo esta disciplina, pudiéndose destacar los trabajos realizados sobre la atmósfera de varias ciudades españolas, como Madrid (Canto & Jiménez-Díaz 1945), Santiago de Compostela (Vieitez-Cortizo 1946), Sanlúcar de Barrameda (Cádiz) (Barrios-Gutiérrez 1941) o Barcelona (Darder & Durán 1936). A finales del siglo XX, se integraron distintas estaciones de monitoreo aerobiológico y se fundó la Red Española de Aerobiología (REA), la cual promueve la producción científica y difusión de trabajos en esta disciplina. La REA forma parte como red técnica de la Asociación Española de Aerobiología (AEA) desde su creación en 1996 (Iglesias-Otero 2013).

La aerobiología es considerada como una ciencia multidisciplinar que estudia las partículas atmosféricas de origen o actividad biológica, su dispersión y su impacto sobre el medio ambiente y los organismos (Mandrioli & Ariatti 2001). Por tanto, se ocupa de los granos de polen, esporas de hongos, briófitos, pterófitos, microalgas, bacterias y virus.

La aerobiología se puede aplicar directamente en el campo de la medicina (p. ej. D'Amato *et al.* 2007), biodeterioro (p. ej. Ruga *et al.* 2008), agricultura (p. ej. García-Mozo 2011; Oteros *et al.* 2015) y ecología (p. ej. Ziello *et al.* 2012; García-Mozo *et al.* 2010; Galán *et al.* 2016), entre otros. Los estudios sobre el contenido de polen en el aire y la fenología reproductora están, además, estrechamente relacionadas (Jato *et al.* 2002b; García-Mozo 2017). Por este motivo, actualmente existe una creciente producción científica sobre estudios en aerobiología, dada la creciente demanda de la sociedad y la incorporación de numerosos investigadores de distintas disciplinas (Galán *et al.* 2007).

A pesar de la importancia de la aerobiología, existen pocos estudios que la asocien con la fenología, ya que requieren conocimientos de botánica (Kmenta *et al.* 2016). En la actualidad, existen escasas investigaciones que se hayan centrado en la floración de diferentes especies de gramíneas, vinculados a las concentraciones de polen de gramíneas (Frenguelli *et al.* 2010; Tormo *et al.* 2011; León-Ruiz *et al.* 2011; Kmenta *et al.* 2016; Ghitarrini *et al.* 2017).

2.4.1. Respuesta fenológica y del contenido de polen en el aire a los factores meteorológicos.

La fenología está influenciada por diferentes condiciones meteorológicas, tales como la temperatura –especialmente en especies arbóreas–, y la precipitación y fotoperiodo, especialmente en herbáceas (García-Mozo *et al.* 2000, 2009; Morellato *et al.* 2013). En este sentido, Prieto-Baena *et al.* (2003) concluyeron que los parámetros meteorológicos que más influyen en el desarrollo fenológico de las gramíneas durante la floración son las temperaturas máxima y mínima, así como el régimen de precipitaciones.

El promedio de temperatura superficial de la Tierra se ha incrementado en más de 0,6 °C entre los años 1951 y 2010; en particular, las tres últimas décadas han sido consecutivamente las más cálidas de la Historia, siendo la región mediterránea un testigo considerable de esos cambios (IPCC 2013). En zonas localizadas en latitudes medias y altas, cuyo factor limitante no es el agua, con periodo de latencia en invierno y de crecimiento activo en verano, la temperatura es el factor más relevante (Fitter *et al.* 1995, Sparks *et al.* 2000). Después del periodo de latencia invernal, las estructuras reproductoras y vegetativas no comienzan a desarrollarse hasta que se alcanza una cierta temperatura acumulada (en grados-días) por encima de una temperatura umbral (Fernández-González *et al.* 1993; Emberlin *et al.* 1994). La temperatura acumulada que se requiere es diferente entre especies y distintas zonas geográficas (Galán *et al.* 2005).

Existe la tendencia a una cierta constancia en cuanto a los requerimientos meteorológicos necesarios para alcanzar determinados estados fenológicos, siendo estos diferentes en especies de floración temprana o tardía (Castellaro *et al.* 1994). Las especies que florecen durante la primavera temprana se ven más afectadas por las temperaturas que las de floración tardía (Ahas *et al.* 2002; García-Mozo *et al.* 2002; Galán *et al.* 2005). Asimismo, numerosos estudios han destacado más cambios en los eventos fenológicos durante la primavera temprana en respuesta al calentamiento (Parmesan & Yohe 2003; Menzel *et al.* 2006; Piao & Fang 2006; Julien & Sobrino 2009). En ciertas especies de gramíneas se ha llegado a observar que un incremento de la temperatura estimula su desarrollo (Hely & Roxburgh, 2005), influyendo incluso el ritmo estacional del fotoperiodo en el desarrollo de las gramíneas (Laaidi 2011). Por otro lado, la precipitación parece jugar un papel importante, especialmente en especies herbáceas de zonas con falta de agua (Alcázar *et al.* 2009; Recio *et al.* 2009; Galán *et al.* 2016).

En el caso de las gramíneas, la disponibilidad de agua en el suelo es especialmente importante (Dickinson & Dodd 1976; Galán *et al.* 2016) por su particular sistema radical como monocotiledóneas, no permitiendo captar fuentes de agua a mayor profundidad (Clary *et al.* 2004; Kulmatiski & Beard 2013). Por ejemplo, la disponibilidad de agua es uno de los factores ambientales críticos que regulan las actividades de la vegetación en muchas áreas, como las praderas áridas y semiáridas de Norteamérica (Ji & Peters 2003; Pennington & Collins 2007; Throop *et al.* 2012), afectando a la fenología en ese subcontinente (Yu *et al.* 2003), en África (Zhang *et al.* 2005; Dalgleish *et al.* 2012), en Mongolia (Yu *et al.* 2003) o en las praderas alpinas del Himalaya central (Pangtey *et al.* 1990). En la cuenca del Mediterráneo, los periodos de sequía influyen de forma clara sobre la disponibilidad de nutrientes e indirectamente sobre la fenología, especialmente en gramíneas (Spano *et al.* 2003; Dahl *et al.* 2013), afectando a la vegetación de matorral y herbácea (Usó-Domenech *et al.* 1995).

La estación polínica coincide, en líneas generales, con la fenología floral de especies que contribuye a la curva de polen aerovagante y está influenciada por los parámetros meteorológicos que determinan la emisión polínica, la dispersión, el transporte y la deposición de los granos de polen (Silva *et al.* 2007). En los últimos años se han propuesto varias causas para dilucidar el incremento de las concentraciones de polen en el aire (Ziello *et al.* 2012; Galán *et al.* 2016). Numerosos artículos han demostrado que las características de la estación polínica están sujetas a diferentes factores ambientales (D'Amato *et al.* 2007; Cecchi *et al.* 2010; Fernández-González *et al.* 2013; García-Mozo *et al.* 2014; Rojo *et al.* 2015). Por tanto, la cantidad de polen en el aire puede variar anualmente dependiendo de la intensidad de la floración (Frei & Gassner 2008), incluso se ha sugerido que un aumento de niveles de CO₂ en la atmósfera puede aumentar la producción de polen en el aire (Ziska & Caulfield 2000; Ziska *et al.* 2003; Singer *et al.* 2005; Ladeau & Clark 2006; Rogers *et al.* 2006; García-Mozo *et al.* 2010; Galán *et al.* 2016).

Numerosos estudios indican que un tiempo seco y soleado puede llegar a provocar una mayor cantidad de polen en el aire y una estación polínica más larga (Emberlin *et al.*, 1990; Fornaciari *et al.* 1992; Domínguez-Vilches *et al.* 1993; Recio *et al.* 1996; Díaz de la Guardia *et al.* 1998; Spieksma & Nikkels 1998; Moreno *et al.* 2000; Bartková-Scevková 2003; Rodríguez-Rajo *et al.* 2003; Sánchez-Mesa *et al.* 2003). En este sentido, se puede afirmar que el tiempo seco y soleado favorece la dispersión y/o transporte de los

granos de polen, siendo los días más favorables aquellos que presenten una humedad relativa baja y sin precipitación (Barnes *et al.* 2001; Jato *et al.* 2002a; Sánchez-Mesa *et al.* 2003; Rizzi-Longo *et al.* 2004; Méndez *et al.* 2005; González-Parrado *et al.* 2009). Por otro lado, la lluvia limita el contenido de polen en el aire, bien realizando un lavado atmosférico (Silva *et al.* 2000; Barnes *et al.* 2001; Pérez *et al.* 2009; Recio *et al.* 2010), o bien bloqueando la emisión de la fuente productora. Dependiendo del momento del día en que se produzca la precipitación, y de la intensidad de la misma, su efecto será más o menos significativo en diferentes especies (Galán *et al.* 1991; Bricchi *et al.* 1992), especialmente en las gramíneas (Clary *et al.* 2004). De cualquier manera, aunque la temperatura, la insolación y el viento suelen favorecer la presencia de polen en la atmósfera, valores extremos pueden influir negativamente en el registro polínico (Cariñanos *et al.* 2004; Alba-Sánchez *et al.* 2010).

2.5. Alergias al polen.

La alergia al polen –o polinosis- fue descrita por primera vez a principios del siglo XIX por parte del médico John Bostock que la presentó como fiebre del heno o «*aestivus catarrhus*», cuyos síntomas eran irritación nasal, estornudos, opresión en el pecho, dificultad para respirar y languidez; síntomas que aparecían a principios y mediados de junio de forma anual, con diferentes grados de severidad, pero sin llegar a establecer una causalidad (Bostock 1819). Sin embargo, Blackley (1873) fue el primero en demostrar sobre él mismo que dicha causalidad era el grano de polen. En 1903, William P. Dunbar confirmó el estudio de Blackley (Jackson 2007) y, tres años más tarde, Alfred Wolff-Eisner descubrió que las proteínas del polen eran las responsables de los síntomas de alergia (Ring & Gutermuth 2011). En la actualidad, la expresión «*fiebre del heno*» no se utiliza, y la polinosis o alergia al polen se define por la inflamación de la mucosa nasal y/o conjuntival y/o bronquial causada por alérgenos contenidos en los gránulos de polen a través de un mecanismo inmunológico mediado por la IgE (Valero-Santiago & Cadahía-García 2002). Se estima que la prevalencia de alergia al polen se encuentra alrededor de un 40% de la población (D'Amato *et al.* 2007), incluso hay evidencias de que ha incrementado su prevalencia en las últimas décadas, sobre todo en países industrializados (Morais-Almeida *et al.* 2005; Gaspar *et al.* 2006; Rodríguez-Rajo *et al.* 2010).

Un alérgeno es un antígeno que al entrar en contacto con el sistema inmunitario de sujetos susceptibles es capaz de sensibilizar, es decir, de inducir la producción de anticuerpo IgE,

y desencadenar una reacción alérgica (Aalberse 2000). En los componentes estructurales de algunos tipos polínicos residen algunas proteínas que son susceptibles de ser alérgenos. Los alérgenos se pueden encontrar también en esporas de hongos, ácaros del polvo, pelo de los animales, látex o en algunos alimentos y fármacos, entre otros (Shah & Grammer 2012).

La principal manifestación clínica de las enfermedades alérgicas es la alergia respiratoria, cuyos síntomas más frecuentes son la rinitis alérgica, conjuntivitis y asma (Pawankar *et al.* 2011). En primer lugar, la rinitis alérgica es una patología inflamatoria crónica de la mucosa nasal, mediada inmunológicamente y caracterizada en términos clínicos por picor, estornudos, rinorrea y/u obstrucción nasal (Bousquet *et al.* 2008; Brozek *et al.* 2010). La prevalencia de rinitis alérgica afecta a alrededor del 25% de la población europea (Bauchau & Durham 2004, 2005). En segundo lugar, la conjuntivitis es una inflamación de la conjuntiva, es decir, la membrana que recubre la superficie ocular y el interior de los párpados, a causa una respuesta excesiva del organismo frente a un alérgeno (Bielory & Friedlaender 2008). Esta se asocia frecuentemente con otras enfermedades alérgicas como, por ejemplo, en un 50-70% de pacientes con rinitis (Bonini *et al.* 2004; Rosario & Bielory 2011). Cuando se combina con la rinitis se denomina rinoconjuntivitis y tiene un efecto adverso sobre la calidad de vida causando angustias sociales y psicológicas (Majani *et al.* 2001; Pitt *et al.* 2004). Los síntomas de la conjuntivitis incluyen picor, lagrimeo, enrojecimiento y sensación de cuerpo extraño, entre otros (Cingi *et al.* 2017). Por último, el asma se caracteriza por una inflamación crónica de las vías respiratorias y la presencia de valores séricos altos de IgE (D'Amato *et al.* 2007), provocando opresión en el pecho, tos y dificultad para respirar (Holgate 2008).

La prevalencia e intensidad de estos síntomas pueden depender de las características de la estación polínica y la abundancia de aeroalérgenos asociados a otros factores ambientales (D'Amato *et al.* 2007; Bousquet *et al.* 2012), además de variar entre los sujetos (Berger *et al.* 2013). En este sentido, un sujeto alérgico presenta en sí mismo una predisposición genética a desarrollar respuestas de hipersensibilidad (García-Hernández 2010). Asimismo, algunos estudios informan sobre las interacciones entre genes y el ambiente en el asma y las afecciones alérgicas (Zhang *et al.* 2007, 2008; Vercelli 2010); no obstante, los datos no son concluyentes en cuanto a qué factores genéticos y ambientales específicos están interactuando (Zhang *et al.* 2011).

Por otro lado, además del componente genético, el factor principal desencadenante de alergia es la dosis y el tiempo de exposición al alérgeno, por lo que la medida preventiva primordial debe evitar el contacto con el alérgeno (Freile 2001). Las alteraciones en el clima que se han producido en las últimas décadas pueden ser los causantes del continuo aumento de las enfermedades alérgicas (D'Amato *et al.* 2013), donde otros factores como una mayor presencia de contaminantes atmosféricos en el exterior, originada por un consumo energético más elevado y por las emisiones de los coches y otros vehículos, y el modo de vida en las ciudades parecen afectar el desarrollo correcto del sistema inmunitario (D'Amato & Liccardi 2003; D'Amato & Cecchi 2008; Linares 2010).

En España, resultados del estudio epidemiológico observacional realizado sobre una amplia muestra de pacientes alérgicos (Navarro *et al.* 2009; Quirce 2009) pusieron en evidencia que la manifestación más frecuente es la rinitis alérgica, que afecta al 55% de los mismos; en muchos casos, la rinitis se asociaba a conjuntivitis (65%) y, en menor medida, a asma (37%). El polen atmosférico fue el principal vector de los alérgenos (51%), seguido de los ácaros (42%). Entre los alérgicos al polen, es más frecuente estar sensibilizado a varios tipos diferentes de polen (polisensibilización, 55%) que a un solo tipo (monosensibilización, 45%).

En estos estudios es necesario obtener los datos sobre la calidad de vida en sujetos con alergias al polen, por lo que en el capítulo III se diseñó un dossier para la recogida de información integrado por una carta informativa, en la que se resaltaba el carácter voluntario y anónimo de la participación en el estudio, una solicitud explícita de colaboración en las que los sujetos de estudios otorgaban su consentimiento a la participación en el estudio mediante su firma y fecha, un formulario original y específico que recogía ítems sociodemográficos, sintomatológicos de alergia al polen y uso de fármacos, basados en el portal web pollendiary.com.

2.5.1. Granos de polen como vectores responsables de alergias.

Un solo tipo polínico, polen con morfología semejante, representa a toda la familia botánica y se caracteriza por poseer un único poro (Figura 3). Su tamaño medio varía entre 35 a 40 μm de diámetro. Estos granos de polen son desde circulares a ligeramente elíptico o esferoidales. Su abertura simple de tipo poro se sitúa en el polo distal y cuenta con un opérculo. Su exina es delgada, con sexina más gruesa que la nexina, a menudo esta última más gruesa en las proximidades de la apertura para formar un anillo. Su

superficie puede ser granulosa, a veces rugulada. Los granos de polen tienen un tamaño variable, llegando a sobrepasar los 50 μm en el caso de especies cultivadas (Erdtman 1986; Perveen 2006; Trigo *et al.* 2008).

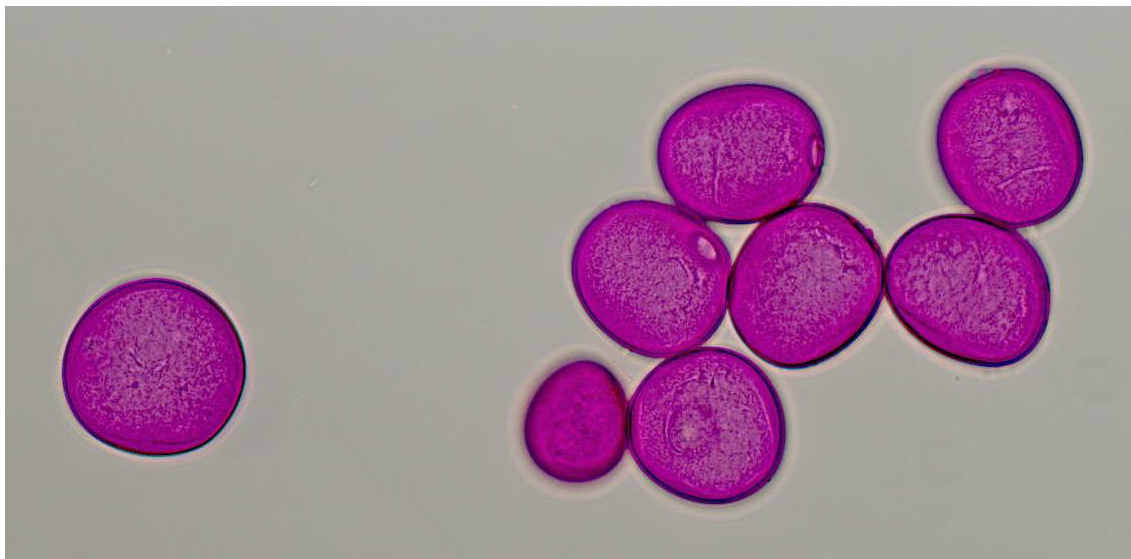


Figura 3. Granos de polen de la Familia Poaceae.
Fuente: Grupo de Aerobiología de la Universidad de Córdoba.

El grano de polen contiene al gametofito masculino de las espermatofitas. La mayoría de las gimnospermas y parte de las angiospermas cuentan con una polinización anemófila (Valero-Santiago & Cadahía-García 2005); estos granos de polen son considerados como vectores responsables de alergia, ya que transportan alérgenos con un riesgo para la salud ambiental (Traidl-Hoffmann *et al.* 2003; Gioulekas *et al.* 2004; Medek *et al.* 2012). Sin embargo, algunos estudios han demostrado que no solo liberan alérgenos, sino también enzimas y lípidos bioactivos que activan neutrófilos humanos y eosinófilos *in vitro* (Traidl-Hoffmann *et al.* 2002; Plötz *et al.* 2004).

Los granos de polen poseen una pared, denominada esporodermis, cuya estructura consta fundamentalmente de dos capas muy diferenciadas: la exina –o capa más externa-, cuyo componente químico principal es la esporopolenina; y la intina –o capa más interna-, cuyos componentes a destacar son celulosa, pectinas y glicoproteínas (Edlund *et al.* 2004). En la intina se encuentran moléculas con función alergénica, mientras que otras parecen desempeñar un papel en la hinchazón de la pared celular y la aparición de tubos polínicos (Howlett *et al.* 1973; Staff *et al.* 1990; Chen *et al.* 2009). Cuando estos granos de polen se exponen a sustancias mucosas que permiten su hidratación, provocan síntomas de alergia, además de asma, ya que son partículas de menor tamaño que el polen, pudiendo llegar a alcanzar el tracto respiratorio inferior (Galán *et al.* 2017).

El tipo de inflorescencia de las gramíneas y la estructura de su flor permiten la liberación de una gran cantidad de polen a la atmósfera. Según Prieto-Baena *et al.* (2003), la producción de polen de algunas de ellas ronda desde 14×10^3 –como *Vulpia myuros* (L.) C.C.Gmel.- a 22×10^6 granos de polen por inflorescencia –como *Sorghum halepense*-. Por su parte, Aboulaich *et al.* (2009) mostraron que la producción de polen en diferentes especies osciló entre 12×10^3 –como *Taeniatherum caput-medusae* (L.) Nevski- a 15×10^6 granos de polen por inflorescencia –como *Sorghum halepense* (L.) Pers-.

En la actualidad, no es posible identificar a microscopía óptica el polen de la mayoría de especies de gramíneas dada su similitud (Kraaijeveld *et al.* 2015). Su identificación a nivel de género sería muy relevante ya que se podrían distinguir aquellos cuyos granos de polen son causantes de reacciones alérgicas (Hrabina *et al.* 2008; De Weger *et al.* 2011), aunque las altas concentraciones de polen en el aire no siempre implican altos niveles de aeroalérgenos (Plaza *et al.* 2016). Por lo tanto, la identificación y concentración de los alérgenos en los granos de polen de gramíneas varía entre las especies (Gangl *et al.* 2013) e incluso durante el desarrollo del polen (Buters *et al.* 2010).

Las proteínas alergénicas, presentes en el grano de polen u otras partes de la planta, se distribuyen en catorce grupos de alérgenos de acuerdo con las semejanzas fisicoquímicas e independientemente de la especie de procedencia (Andersson & Lidholm 2003; Weber 2007), o en diez grupos según su elevada reactividad cruzada (nombrados según la nomenclatura oficial IUIS). De todas las especies, *Phleum pratense* es considerada como una fuente importante de alérgenos polínicos en las regiones templadas debido a que muestra una importante reactividad cruzada con otras especies de la misma familia (Aleksić *et al.* 2014), y sus extractos y alérgenos son ampliamente utilizados para el diagnóstico de alergia al polen de gramíneas. En particular, Phl p 1 y Phl p 5 son marcadores de sensibilización para este tipo polínico, ya que están presentes exclusivamente en los granos de polen (Gangl *et al.* 2013).

Numerosos estudios han mostrado una correlación positiva entre el contenido de polen en el aire con los síntomas alérgicos, como rinitis y/o conjuntivitis (Zeghnoun *et al.* 2005; Breton *et al.* 2006; Fuhrman *et al.* 2007; Takasaki *et al.* 2009), además de asma (Tobias *et al.* 2003, 2004, 2009; Héguy *et al.* 2008; Carracedo-Martínez *et al.* 2008; Dales *et al.* 2004, 2008). La severidad de los síntomas a similar concentración de polen pueden variar entre diferentes regiones (Burbach *et al.* 2009). Los granos de polen pueden estar en el

aire durante gran parte del año y sus alérgenos pueden persistir durante meses, por lo que es muy complicado evitar el contacto con ellos (Taylor *et al.* 2002); empero, el clima mediterráneo posee una marcada estacionalidad, variando según el área geográfica (Martínez-Bracero *et al.* 2015).

Por todo ello, es importante conocer no solo la distribución de los granos de polen en el aire y las características moleculares de los alérgenos que ellos contienen, sino también el papel que estas moléculas juegan en el desarrollo y germinación del polen (Valero-Santiago & Cadahía-García 2005). En este sentido, la información sobre las concentraciones de granos de polen o alérgenos en la atmósfera susceptibles de producir reacciones alérgicas es de gran utilidad para las personas que padecen de esta enfermedad, así como para los médicos a la hora de planificar sus tratamientos (Abreu & Ribeiro 2005; Docampo *et al.* 2007; Guillam *et al.* 2010; Erbas *et al.* 2013). En consecuencia, numerosos países europeos han creado redes de información encargadas de suministrar los datos del contenido polínico del aire, como la Red Española de Aerobiología (REA), integrada en la Red Europea de Aeroalérgenos (EAN), entre otros.

En la ciudad de Córdoba, son cuatro los tipos polínicos más causantes de alergia primaveral: polen de olivo, gramíneas, plátanos de sombra y urticáceas (*Parietaria*) (Sánchez-Mesa *et al.* 2005). Con este trabajo se ha pretendido estudiar el papel que ocupan en la actualidad los granos de polen de gramíneas en la ciudad de Córdoba, familia botánica objeto de esta tesis doctoral, teniendo en cuenta los tipos polínicos mencionados anteriormente, prentándose todos ellos a continuación.

2.5.1.1. Alergia al polen de gramíneas.

El polen de gramíneas es una de las principales causas de alergia en muchos lugares del mundo, en especial, en América del Norte y Europa (Cervigón *et al.* 2002; Llamas & Acedo 2002; D'Amato *et al.* 2007; Kmenta *et al.* 2016). En Europa, se ha estimado que el 35% de la población es alérgica al polen de gramíneas (De Weger *et al.* 2013). Sin embargo, los datos disponibles muestran variaciones marcadas entre y dentro de los países (Davies 2014; Newson *et al.* 2014). En el sur de España, existe alrededor de un 59% de la población que sufren rinitis (Pereira *et al.* 2006) y, de forma más concreta, 73% de los pacientes son alérgicos a este tipo polínico en Córdoba (Sánchez-Mesa *et al.* 2005).

De acuerdo con Jochner *et al.* (2015) y Pfaar *et al.* (2017), las concentraciones polínicas de menos de 10 granos de polen/m³ podrían ser suficientes para afectar a sujetos sensibles en Europa, aunque estudios a nivel nacional o local apuntan a otras concentraciones, como es el caso de 25 granos de polen/m³ para España (Galán *et al.* 2007) o, concretamente, 35 granos de polen/m³ para Ciudad Real (Feo-Brito *et al.* 2010).

A pesar de ser una familia compuesta por una gran cantidad de especies, solo un pequeño número de ellas parece ser el responsable de la mayoría del polen alergénico en el aire (Subiza *et al.* 2002; Subiza 2003; Prieto-Baena *et al.* 2003). Por ejemplo, en Córdoba, las especies que más contribuyen al espectro polínico son: *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Vulpia geniculata* (León-Ruiz *et al.* 2011).

2.5.1.2. Alergia al polen de olivo.

El olivo es una de las principales causas de alergia respiratoria en los países de la cuenca del Mediterráneo (D'Amato *et al.* 2007), donde sus áreas de cobertura terrestre se extienden de forma amplia y, por tanto, es considerado como uno de los tipos polínicos con mayor representación en el espectro polínico de la región mediterránea (Pérez-Badia *et al.* 2010; Martínez-Bracero *et al.* 2015). Por ejemplo, el sur de Italia, Grecia, Turquía y España representan a los países donde los casos de sensibilidad a este tipo polínico han sido más importantes (Florido *et al.* 1999; Gioulekas *et al.* 2004; Kirmaz *et al.* 2005). En particular, en el sur de la Península Ibérica, el polen de olivo es la segunda causa de alergia al polen con tasas de hasta el 80% de la población (Sánchez-Mesa *et al.* 2005; Barber *et al.* 2008). La provincia de Córdoba, junto a otras andaluzas como Jaén y Granada, es una de las que posee un alto porcentaje de sensibilización a su principal alérgeno: Ole e 1 (Barber *et al.* 2008). En este sentido, las concentraciones máximas de polen en el aire se producen cuando los olivares de estas provincias se encuentran en plena floración, ya que ocupan una gran superficie terrestre y son consideradas las áreas productoras de aceite de oliva más extensas de España (Barranco *et al.* 2008). A esto se suma que casi un 40% del total del espectro polínico se detecta en la atmósfera de Córdoba con valores anuales de hasta 30000 granos de polen (Velasco-Jiménez *et al.* 2013).

De acuerdo con Florido *et al.* (1999), se necesitarían alrededor de 400 granos de polen/m³ para la aparición de síntomas alérgicos en pacientes sensibles. No obstante, estudios posteriores proponen que el umbral de polen de olivo para provocar síntomas es 162 granos de polen/m³ (Cárdaba *et al.* 2007; Feo-Brito *et al.* 2011); valor que entraría en el

rango del umbral propuesto por Galán *et al.* (2007) de 50-200 granos de polen/m³. Por último, según Pfaar *et al.* (2017), las concentraciones polínicas de más de 20 granos de polen/m³ podría ser suficientes para iniciar su efecto en sujetos sensibles en Europa.

2.5.1.3. Alergia al polen de plátano de sombra.

Hoy en día, el polen de plátano de sombra es considerado como un tipo polínico con una creciente incidencia en casos de alergia al polen (Alcázar *et al.* 2015). El plátano de sombra es un tipo polínico común dada su presencia como árbol ornamental, con niveles altos de cantidad de polen en el aire en el sur de Europa. La mayoría de los pacientes sensibles al plátano de sombra residen en zonas urbanas (Alcázar *et al.* 2011). Este árbol se utiliza principalmente por su capacidad para tolerar atmósferas muy contaminadas, su resistencia a enfermedades, su rápido crecimiento y su capacidad de proporcionar sombra en la época estival. Estas cualidades le confieren un gran valor ornamental que justifica su amplia distribución, no solo en la Península Ibérica, sino también en Estados Unidos y otros países europeos como Bélgica, Francia, Gran Bretaña, Italia y Suiza (Enrique-Miranda 2002; Asam *et al.* 2015).

Platanus hispanica Mill. ex Münchh. (*P. hybrida* Brot.; *P. acerifolia* (Aiton) Willd.) es un híbrido entre *P. occidentalis* L. –de origen norteamericano- y *P. orientalis* L. –de origen balcánico y asiático-. Suelen florecer de marzo a abril y fructificar a finales de verano y otoño (Alcázar *et al.* 2015). Durante su época de floración, el polen liberado puede alcanzar niveles elevados en la atmósfera, según se ha comprobado en algunas zonas de España (Asturias *et al.* 2002).

La exposición a altos niveles de polen de plátano de sombra puede provocar rinitis, conjuntivitis y asma en Europa (Fernández-González *et al.* 2010; Damialis *et al.* 2011; Nowak *et al.* 2012; Asero *et al.* 2012; Ozturk *et al.* 2013). En una encuesta europea, la prevalencia media de sensibilización a *Platanus* fue del 5,6% (Heinzerling *et al.* 2009). Un estudio realizado en Madrid por Subiza *et al.* (1995) mostró que el porcentaje de reacciones positivas en las pruebas cutáneas aumentó un 50% a lo largo de 15 años, lo que llevó a Varela *et al.* (1997) a citar el polen de *Platanus* como una importante causa de alergia en Madrid. En otros lugares de España, el porcentaje de sensibilidad a este tipo polínico fue 10% en Málaga (Burgos 1991), 19% en Ciudad Real (Feo-Brito *et al.* 1998), 14% en Santander (De Benito-Rica & Soto-Torres 2001), 13% Coruña, 9% en Santiago de Compostela (Dopazo 2001), 8% en Barcelona (Enrique-Miranda *et al.* 2002), 52% en

Toledo (Moral de Gregorio *et al.* 1998) y 17-19% en Córdoba (Alcázar *et al.* 2004; Sánchez-Mesa *et al.* 2005). Por otro lado, Alcázar *et al.* (2004) informaron que los síntomas de alergia al polen en los inicios de la primavera son más intensos y persistentes, sobre todo en zonas urbanas.

De acuerdo a los niveles reportados por la Red Aerobiológica Portuguesa (RAP) (Camacho *et al.* 2011), se considera que 30 granos de polen/m³ están asociados con un riesgo moderado de reacción alérgica y 60 granos de polen/m³ con alto riesgo. En España, se considera 50-200 granos de polen/m³ con un riesgo moderado (Galán *et al.* 2007).

2.5.1.4. Alergia al polen de Urticaceae.

La familia Urticaceae está representada por *Urtica* –cuyas especies no cuentan con polen alergógeno- y *Parietaria* –cuyas especies cuentan con polen alergógeno- (Jato *et al.* 2010). Este último se encuentra entre los más potencialmente alérgicos en Europa (D’Amato *et al.* 2007) y, en particular, en la región mediterránea (Trigo *et al.* 2008).

La prevalencia de sensibilización a los alérgenos de *Parietaria* es más alta en los países mediterráneos, donde el polen de *Parietaria* es una de las fuentes más importantes de alérgenos. En estudios clínicos, la prevalencia media de sensibilización osciló entre el 17,5% en Portugal y el 24,8% en Grecia (Heinzerling *et al.* 2009). En Italia, varió entre el 33,2% y el 60% (Ariano *et al.* 2010; Scichilone *et al.* 2013). Como se ha señalado en otros estudios realizados en España (Belmonte *et al.* 1999; De Benito-Rica & Soto-Torres 2001), el tipo de polen de Urticaceae ha tenido menos repercusiones alérgicas; sin embargo, dos años más tarde, Luengo & Cadahía (2003) encontraron entre el 10% y el 30% de los pacientes eran alérgicos al polen *Parietaria*. En Córdoba, el 11,59% de los pacientes son alérgicos a este tipo polínico (Sánchez-Mesa *et al.* 2005). Según Galán *et al.* (2007), el umbral para considerar un riesgo para problemas de alergia sería 15-30 granos de polen/m³.



3. OBJETIVOS

OBJETIVOS

El objetivo general de la presente tesis ha sido realizar un estudio sobre la fenología floral de distintas especies de Poaceae en la ciudad de Córdoba y Sierra Morena, así como evaluar el contenido de polen en el aire en la atmósfera de Córdoba de esta familia botánica y su incidencia de alergia al polen en la población. Para ello, se han planteado los siguientes objetivos específicos en cada uno de los distintos capítulos.

Capítulo I

- I. Evaluar el comportamiento fenológico de las especies de la familia Poaceae en los diferentes tipos de cobertura vegetal (matorral, ribera y pastizal) en la ciudad de Córdoba y las colinas cercanas de Sierra Morena durante la primavera.
- II. Elaborar un calendario fenológico de las principales especies de Poaceae que crecen en Córdoba.
- III. Analizar las concentraciones de polen de Poaceae en la atmósfera de Córdoba, indicando cuáles son las especies que más contribuyen a la curva polínica.

Capítulo II

- I. Estudiar la composición de la comunidad de gramíneas en diferentes tipos de coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal).
- II. Evaluar la influencia de las distintas especies, la cobertura vegetal y el año de estudio sobre el inicio y la duración de la floración de las gramíneas.

Capítulo III

- I. Determinar la relación entre la cantidad de polen en el aire y su incidencia en las alergias al polen.
- II. Investigar el uso de fármacos para tratar los diversos síntomas mostrados por los sujetos alérgicos al polen.



4. MATERIALES Y MÉTODOS

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Área de estudio.

La presente tesis se ha llevado a cabo en la ciudad de Córdoba (30S UTM X: 341642; UTM Y: 4192085) y las cercanas colinas de Sierra Morena, situada al sur de la Península Ibérica. La ciudad de Córdoba consta de una población de 326609 habitantes (último censo, INE 2016) y se encuentra a 112 metros sobre el nivel del mar.

El término municipal de Córdoba ocupa 1245 km², aproximadamente el 9% del total de la provincia (INE 2017), y se ubica en los márgenes del río Guadalquivir, que lo atraviesa de este a oeste formando meandros. Por su orografía, se delimita dos zonas: Sierra Morena y una amplia campiña (IGN 2017). El término tiene tres partes geológicamente diferenciadas, creadas por el choque entre la placa Ibérica y la placa de Alborán: el norte, con Sierra Morena, con las rocas más antiguas -precámbricas y paleozoicas- con metamorfismo; el centro, donde se extiende el valle del Guadalquivir, con materiales más modernos -del Paleógeno y Mioceno, principalmente-; y el sureste, formado por las estribaciones de la Cordillera Bética, con materiales de edades intermedias y un bajo grado de metamorfismo en algunas zonas (Valle-Buenestado 2016).

4.2. Vegetación.

Sierra Morena se corresponde con la serie mesomediterránea luso-extremadurensis seco-subhúmeda y silicícola de la encina (*Quercus rotundifolia* Lam.), *Pyro bourgaeanae-Querceto rotundifoliae sigmetum* (Rivas-Martínez 1987).

Los bosques típicos de Sierra Morena incluyen encinares y alcornocales, en alternancia con coscojales, madroñales, jarales, entre otros, y frecuentemente con cultivos de pinos. Aunque ocupan gran extensión, los encinares bien conservados no se encuentran en abundancia sino que están siendo explotados por tradición con el fin de un aprovechamiento tanto ganadero –desarrollo del majadal– como agrícola –cultivos cerealistas–, además de un uso cinegético. En las zonas más meridionales de Sierra Morena, muy cerca de la Depresión del Guadalquivir, han sido reemplazadas por olivares, algunos con carácter marginal y otros productivos (Junta de Andalucía 2017).

La vegetación que se encuentra dentro de las ciudades tiene una transcendental influencia en la concentración de polen en el aire (Gonzalo-Garijo *et al.* 2006; Velasco-Jiménez *et*

al. 2013), siendo Poaceae uno de los tipos polínicos más abundantes (Martínez-Bracero et al. 2015).

4.3. Climatología.

Córdoba tiene un clima de tipo mediterráneo, con una cierta continentalidad, caracterizado por inviernos templados y lluviosos y veranos calurosos y secos. La lluvia suele ocurrir en relativamente pocos días, pudiendo ser de naturaleza torrencial. Con respecto al verano, suceden fuertes oscilaciones térmicas diarias con una media de temperaturas máximas, siendo de las más altas de Europa, sobrepasando el límite de los 40-45 °C; el promedio de temperatura media alcanza los 28 °C. La temperatura media anual es de 18,2 °C y la precipitación media anual es de 605 mm, aunque los períodos de sequías no son raros (promedios a 30 años, 1981-2010, datos de la Agencia Meteorológica Española, AEMET, 2011).

La temperatura máxima registrada en el Observatorio del Aeropuerto de Córdoba, situado a 6 km de la ciudad, fue de 46,6 °C del 23 de julio de 1995. Por su parte, la temperatura mínima más baja corresponde a los -8,2 °C del 28 de enero de 2005. El año 2015 fue especialmente caluroso con una máxima de temperatura media en el mes de julio de 40,3 °C (Tabla 1).

Máximo número de días de lluvia por mes	24 (Diciembre 1996)
Máximo número de días de nieve por mes	2 (enero 2006)
Máximo número de días de tormenta por mes	9 (mayo 1998)
Precipitación máxima en un día (l/m ²)	154,3 (2 de noviembre de 1997)
Precipitación mensual más alta (l/m ²)	355,0 (diciembre 1996)
Racha máxima de viento: velocidad y dirección (km/h)	Velocidad 126, Dirección 210 (18 de diciembre de 1989 a las 14.10 horas)
Temperatura máxima absoluta (°C)	46,6 (23 de julio de 1995)
Temperatura media mensual de las máximas más alta (°C)	40,3 (julio 2015)
Temperatura media mensual de las mínimas más bajas (°C)	-0,9 (febrero 2012)
Temperatura media mensual más alta (°C)	30,5 (julio 2015)
Temperatura media mensual más baja (°C)	7,2 (diciembre 1967)
Temperatura mínima absoluta (°C)	-8,2 (28 de enero de 2005)

Tabla 1. Datos meteorológicos de la ciudad de Córdoba. Fuente: AEMET (1959-octubre 2016).

4.4. Método fenológico en gramíneas.

Los datos fenológicos pueden ser utilizados como descriptores, tanto del clima local como de los agrobiosistemas y los ecosistemas naturales en los que influye. Las distintas fases fenológicas son respuestas ecofisiológicas basadas en procesos bioquímicos que responden a cambios en el ambiente físico relacionados con ritmos estacionales. En el caso de las plantas, el desarrollo se puede definir como una secuencia de eventos fenológicos que constituyen su ciclo de vida, de forma que cada estadio fenológico se caracteriza por distintas morfologías y procesos fisiológicos. Durante esta tesis, se ha seguido el sistema empleado por Barbieri *et al.* (1989) para la fenología de las gramíneas, ya que se trata de la escala fenológica estandarizada y aceptada a nivel mundial. El sistema de fases fenológicas fue traducido al Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt and Chemical industry (BBCH) para facilitar la comunicación científica internacional (Meier 2009). Según Lieth (1997), la fenología secuencial subdivide el desarrollo de un taxón biológico en secciones identificables a lo largo del tiempo, y estas subdivisiones son conocidas con la denominación de estadios fenológicos o fenofases, cuya sucesión en el tiempo se utiliza para seguir diversos aspectos del desarrollo estacional en la vegetación. Al realizar un monitorizaje sobre las poblaciones de estudio es posible cuantificar la evolución fenológica de las especies en forma de tendencia fenológica anual. Para ello, se consideraron cinco fenofases durante el periodo de fenología reproductiva de las gramíneas (Figura 4). Estas, a su vez, se definieron en relación al número de flores abiertas en la inflorescencia, considerando las flores abiertas aquellas en las que se observaban estambres patentes o maduros. Las cinco fenofases, siguiendo el protocolo BBCH (Meier 2001) fueron: fase 0 o fase de prefloración (BBCH 60), que comienza con la emergencia de la inflorescencia hasta el inicio de la floración; fase 1 o fase de inicio de la floración (aproximadamente desde BBCH 60 a BBCH 63), cuando se observan al menos un 25% de flores abiertas; fase 2 o fase de plena floración (aproximadamente desde BBCH 63 a BBCH 67), que comprende el periodo desde alrededor de un 25% hasta un 75% de flores abiertas; fase 3 o fase de final de floración (aproximadamente desde BBCH 67 a BBCH 69), que comprende el periodo en el que más del 75% de flores están abiertas y termina cuando las anteras han liberado el polen; y fase 4 o fase de fructificación (BBCH 69), que comienza con este proceso. Por regla general, las observaciones de campo fueron distanciadas desde varios días a una semana, según la frecuencia de las observaciones fenológicas que se realicen. En la presente tesis,

la toma de datos se realizó con una periodicidad semanal, desde el 1 de marzo hasta la fructificación de todas las poblaciones de estudio, que podría rondar la primera quincena de junio. Las fases fenológicas se definieron con la media del estado fenológico de la población de cada especie de gramínea, en un lugar y fecha específicos y, posteriormente, agrupado en la cobertura vegetal donde se encontraba dicha población: matorral, ribera y pastizal. Una vez recopilados los datos fenológicos, se han representado de forma gráfica las fases fenológicas considerando como fecha de inicio el 1 de marzo de cada año. Se escogió dicha fecha de inicio porque fue previa a la fase de prefloración y al inicio de estación polínica en todos los años anteriores.



Figura 4. Fases fenológicas de *Trisetaria panicea* (Lam.) Paunero. a) Fase 0 o fase de prefloración, b) Fase 1 o fase de inicio de floración, c) Fase 2 o fase de plena floración, d) Detalle de la espiga (Fase 2), e) Fase 3 o fase de final de floración, f) Detalle de la espiga (Fase 3), g) Fase 4 o fase de fructificación. Fuente: León-Ruiz *et al.* (2011).

En el capítulo I, los lugares de muestreo dentro del área de estudio fueron los escogidos de acuerdo a la base de datos histórica de dos décadas sobre fenología de la

reproducción de distintas especies de gramíneas. Estas bases de datos forman parte de las observaciones fenológicas que se llevan a cabo en diferentes especies por parte del Grupo de Investigación de Botánica Sistemática y Aplicada (RNM130) del PAIDI, Universidad de Córdoba.

En el capítulo II, los puntos de muestreo dentro del área de estudio fueron seleccionados aleatoriamente para el monitoreo fenológico, usando ArcGIS ver. 9.3.1. (ArcGIS9, ESRI Inc, Redlands, CA, USA, ArcGIS9 2009). Se seleccionaron píxeles que representaron dos de los tres tipos de cobertura vegetal (matorral y pastizal), según el Mapa de Usos y Cubiertas de la Planta de Andalucía (CMA 2007). Todo el área de estudio se dividió en un rectángulo geométrico, y los cuatro vértices (latitud y longitud en grados) fueron numeradas. Se obtuvieron diez puntos de muestreo de matorral y diez puntos de muestreo de pastizal a través de una tabla con números aleatorios dentro de este rectángulo geométrico. El software QGIS ver. 2.8.2. (QGIS Development Team 2014) se utilizó para localizar los puntos de ribera: (i) los ríos fueron seleccionados como segmentos enteros; (ii) dichos segmentos se dividieron en porciones geométricas iguales; (iii) se seleccionaron al azar nueve puntos de muestreo de ribera. De esta forma, se seleccionaron 29 sitios para los diferentes tipos de cobertura vegetal considerados (matorral, ribera y pastizal) en los que crecieron varias especies de Poaceae.

4.5. Método aerobiológico.

El parámetro aerobiológico considerado en esta tesis ha sido la concentración de polen de gramíneas por unidad de volumen de aire. El captador volumétrico tipo Hirst (Hirst 1952) es el método propuesto por la «*European Aeroallergen Network*» (EAN) (Jäger 1995), el cual permite conocer las oscilaciones horarias y diarias de las partículas biológicas. Estos captadores permiten obtener datos homologables, independientemente de las características biogeográficas y bioclimáticas de la zona en la que se realice el muestreo (Mandrioli *et al.* 1998). Para la obtención y recuento del polen aerovagante, así como para la ulterior expresión de los resultados obtenidos, se han seguido las recomendaciones que se detallan en el Manual de Calidad y Gestión de la REA (Galán *et al.* 2007) y los mínimos requerimientos de la Sociedad Europea de Aerobiología (EAS) (Galán *et al.* 2014).

El captador volumétrico tipo Hirst (Figura 5) cuenta con tres unidades: (i) unidad de impacto, (ii) veleta y (iii) bomba de vacío. La primera tiene un orificio de entrada y un

tambor donde se adhieren las partículas aerovagantes. Este tambor está conectado a un reloj que gira a razón de 2 mm/hora (48 mm/día) con el fin de poder obtener datos diarios. Sobre este tambor se coloca una cinta de Melinex®, que lleva impregnado un adhesivo transparente (fluido de silicona) con el fin de que las partículas succionadas desde el exterior se adhieran. Con respecto a la veleta adosada al exterior, su función es mantener el orificio de entrada en la dirección de los vientos dominantes, con lo que la eficacia de captación de partículas es mayor. Por su parte, la bomba de vacío permite la succión de un volumen de aire determinado (10 litros/minuto).



Figura 5. Captador volumétrico tipo Hirst.

Fuente: Grupo de Aerobiología de la Universidad de Córdoba.

Después del muestreo, se retira la cinta de Melinex® del tambor y se coloca sobre una regla de metacrilato, que contiene una división máxima para 7 días muestreados. Con ayuda de un cúter, se cortan las muestras diarias de la cinta, de dimensiones 48 x 24 mm. Cada unidad se coloca sobre un portaobjetos de 76 x 26 mm. El cubreobjetos, de dimensiones 24 x 60 mm, lleva impregnado glicerogelatina teñida con fuchsina, con el fin de permitir la tinción de los granos de polen y su posterior identificación. Con ayuda de unas pinzas, se prensa la preparación para homogeneizar y facilitar la expulsión de la

glicerogelatina excedente. Después de 24 horas, se limpian las preparaciones y se sella el borde del cubreobjeto con esmalte transparente.

La lectura de las muestras se lleva a cabo con microscopía óptica a 40x10 aumentos, realizando barridos horizontales continuos a lo largo de toda la preparación que represente una lectura de un mínimo del 10% de la muestra, de acuerdo con la metodología propuesta por la *European Aerobiology Society* (EAS) (Galán *et al.* 2014).

4.6. Análisis estadístico.

En el capítulo I se han analizado doce especies de gramíneas, teniendo en cuenta solo aquellas que se han estudiado durante todo el periodo de estudio y son más frecuentes, que habitan en las tres coberturas vegetales estudiadas para cada año de estudio (2000–2013). Para el análisis de tendencias para el inicio de la floración (fase 1) se utilizó la regresión lineal, donde se han considerado como significativas aquellas variables cuya $p < 0,05$. Asimismo, se analizaron las características de la estación polínica (día juliano de inicio de la estación polínica, día pico de granos de polen, contenido polínico en el día pico e índice de polen anual). El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el paquete estadístico G-Stat versión 2.0, programa estadístico de libre disposición desarrollado por el Departamento de Biometría de GlaxoSmithKline.

En el capítulo II se ha realizado un análisis discriminante para determinar si los diferentes tipos de cobertura vegetal presentaban diferencias en la comunidad de gramíneas. Además, se han llevado a cabo modelos lineales generalizados mixtos (GLMMs), que se aplicaron a los datos fenológicos. Se han aplicado pruebas post hoc de HSD de Tukey ($\alpha = 0,05$) para hallar diferencias significativas entre especies y coberturas concretas. Estos análisis se realizaron con el software JMP 6 (SAS Institute Inc.). Por último, para comprobar la autocorrelación espacial en la fecha de inicio de la floración, se han efectuado tests de Mantel a las matrices de distancia geográfica y a las matrices que contenían el número promedio de días de diferencia en el comienzo de la floración, considerando las especies comunes (correlación de Spearman, 10000 permutaciones; XLSTAT versión 2015.01.24599, Addinsoft). Estas pruebas fueron aplicadas a cada tipo de cobertura vegetal y para cada año de estudio de manera separada. El análisis multivariante se ha realizado mediante el programa estadístico R (R Core Team 2013) con el paquete binda versión 1.0.3 (Gibb & Strimmer 2015).

En el capítulo III, los datos sobre la concentración de polen en el aire, el uso de fármacos y el padecimiento de síntomas por parte de los sujetos alérgicos al polen durante los años 2014 y 2015 fueron expresados en frecuencias absolutas, porcentajes e intervalos de confianza al 95%. Por otro lado, se ha llevado a cabo un análisis de correlación entre el contenido de polen en el aire de los diferentes tipos polínicos y el número de sujetos alérgicos, utilizando el coeficiente de correlación de Spearman. Finalmente, para determinar si existía asociación entre el uso de fármacos y la presencia de síntomas en los sujetos durante los años 2014 y 2015, se realizó un análisis bivalente o análisis simple empleándose el test de χ^2 ; cuando al menos el 20% de las frecuencias era inferior a 5, se empleó el test exacto de Fisher. Fueron consideradas como significativas aquellas variables cuya $p < 0,05$. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el paquete estadístico G-Stat versión 2.0.



5. CAPÍTULO I

*Aerobiological and phenological study of the main
Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the
surrounding hills*

Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills

Jesús Cebrino · Carmen Galán ·
Eugenio Domínguez-Vilches

Received: 31 March 2015 / Accepted: 6 March 2016
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2016

Abstract This study reports on the flowering phenology of 12 Poaceae species in different types of plant cover (scrub, riverbank and pasture), with a view to creating a phenological calendar for the major species contributing most to airborne pollen concentrations. The study has been carried out from March to June between 2000 and 2013. Seventeen sampling sites in the study area were selected by accessibility, and predominantly, grasses grow in different land covers for phenological monitoring. Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap. Results showed that longer phenological ranges were recorded in the wettest year and shorter ranges in the driest year. Over the study period, certain species displayed changes in the timing of flowering phenology. In pastureland and scrubland, a slight phenological delay over the study period has been recorded. In pastureland, some species—i.e., *Bromus madritensis*, *B. diandrus* and *B. hordeaceus*, *Hordeum leporinum* and *Stipa capensis*—displayed a delay in the timing of phenophases over the study period, including *B. hordeaceus* and *B. madritensis* on riverbank. *Dactylis glomerata* and *Trisetaria panicea* in scrub have been the only species with a clear advance; *B. diandrus* and *B. madritensis* a clear flowering delay. *Lolium*

rigidum, *Dactylis glomerata*, *Aegilops geniculata*, in scrub, riverbank and pasture, and *Arrhenatherum album*, only in scrub, full flowering coincided with pollen peak in some populations during several years.

Keywords Poaceae · Grasses · Pollen · Phenology

1 Introduction

Phenology is the study of periodically occurring biological events as influenced by the environment, and especially by changes in temperature prompted by changing weather and climate patterns (Schwartz 2003). Phenological research, as a mainly descriptive science, requires precision, methodological fieldwork and direct observation of the annual life cycle of the species under study (Menzel 2002). In addition, phenology is an excellent tool for detecting and measuring the impact of climate on vegetation, since variations in climate give rise to changes or transformations in individuals over a particular period of time; these changes are most apparent over longer intervals, and for certain stages of the annual life cycle, known as phenophases (Roetzer et al. 2000). Aerobiological research studies the behavior, concentration and dispersal of airborne biological particles and charts their impact on the environment and on living organisms (Mandrioli and Ariatti 2001). As such, it is viewed as a valuable means of evaluating the

J. Cebrino (✉) · C. Galán · E. Domínguez-Vilches
Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal,
Universidad de Córdoba, Campus de Rabanales, Edificio
Celestino Mutis (C4), 14071 Córdoba, Spain
e-mail: jcebrinocruz@gmail.com

behavior of airborne pollen from wind-pollinated species, such as Poaceae.

Poaceae comprises more than 700 genera containing around 10,000 species (Watson and Dallwitz 1992), being only overcome by Asteraceae, Fabaceae, Orchidaceae and Rubiaceae (Heywood et al. 1985). The importance of this family lies in terms not only of the number of species involved but also of the key ecological role played by these species in large herbaceous formations covering almost 25 % of the land surface (Dyer et al. 1982). Most grasses contain numerous flowers per inflorescence and thus release a large amount of pollen into the atmosphere; however, most perennial species produce 3.5 times higher pollen concentration *per* inflorescence than annual species (Prieto-Baena et al. 2003). Poaceae pollen grains are among the main causes of pollen allergy in Europe (D'Amato et al. 1998, 2007) and in Córdoba and are regarded as the second leading cause of allergy after olive pollen (Domínguez-Vilches et al. 1995).

Despite the ecological importance of this large family and the clear impact of its pollen on human health, only some papers have been published on field research into Poaceae phenology (i.e., Prieto-Baena et al. 2003; Sánchez-Mesa et al. 2003, 2005; Tormo et al. 2011; León-Ruiz et al. 2011, 2012).

Poaceae pollen grains are stenopalynous, and the present research sought to provide information about phenology on different species, as well as to ascertain which species contributed most to airborne pollen concentrations.

The specific aims were: (i) to monitor the phenological behavior of Poaceae species in different types of plant cover (scrub, riverbank and pasture) in Córdoba City and peri-urban area in spring; (ii) to create a phenological calendar of the main Poaceae species growing in Córdoba; and (iii) to analyze local Poaceae airborne pollen concentrations, indicating which species contribute most to the curve.

2 Materials and methods

2.1 Study area

This study was conducted in Córdoba City and the nearby Sierra Morena hills between 2000 and 2013; data were not collected in 2011 due to fieldwork problems. Córdoba City (30S UTM X: 341642; UTM

Y: 4192085), located in the southwestern Iberian Peninsula, has a population of 333.033 inhabitants (latest census, 2011); it lies at 123 meters above sea level and covers a surface area of 290.23 km². It has a Mediterranean climate with some continental features, characterized by cold temperate winters and hot dry summers. The mean annual temperature is 17.6 °C, and the mean annual rainfall is 535 mm (1971–2000) (AEMET, Spanish State Meteorological Agency 2001).

2.2 Aerobiological data

Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap based on the impact principle (Hirst 1952). The trap is located 22 m above ground level, in the Campus of Rabanales, University of Córdoba.

Monitoring and data management were carried out in accordance with guidelines published in Spanish Aerobiology Network (REA) Management and Quality Manual (Galán et al. 2007) and with the minimum recommendations of the European Aeroallergen Network (EAN) (Galán et al. 2014). Data were expressed as average daily pollen grains/m³ of air.

The pollen season start was defined as the first day with ≥ 10 pollen grains/m³ of air and three subsequent days recording 10 or more pollen grains/m³. The pollen season end was defined as the last day with at least 10 pollen grains/m³ of air and with three subsequent days with lower values.

2.3 Meteorological data

Daily average temperature and rainfall data were provided by the Spanish State Meteorological Agency, located a few meters from the pollen-monitoring station in Córdoba. Southerly winds predominate. This airflow is coming from open areas, except for a few areas of olive cultivation. Cumulative average temperature and cumulative rainfall for March (M), February–March (FM) and January–February–March (JFM) for each study year are shown in Table 2.

2.4 Phenological data

Seventeen sampling sites within the study area were chosen for phenological monitoring in three different land covers: scrub with vegetation dominated by

woody perennials, pasture with grasses or other herbs and riverbank in which various grass species grow (Fig. 1). Sampling points were selected by accessibility, and grasses predominantly grow in different land covers. The scrub land cover occupies the greater extension, and it has been represented by 11 sampling points. Pasture and riverbank are less represented in the area with only four and two sampling points, respectively. Phenological monitoring was carried out weekly from March to June between 2000 and 2013. The most representative species at the various sampling sites were selected.

The following phenological phases were observed, based on the Barbieri system (Barbieri et al. 1989), and were translated into Biologische Bundesanstalt, BUNDessortenamt and Chemical industry (BBCH) phenological phases to facilitate international scientific communication: pre-flowering or phase 0 (<BBCH 60): the period from plant emergence to start of flowering; start of flowering or phase 1 (approx. from BBCH 60 to BBCH 63): until 25 % of florets open; full flowering or phase 2 (approx. from BBCH 63 to BBCH 67): from 25 to 75 % of florets open; end of flowering or phase 3 (approx. from BBCH 67 to BBCH 69): more than 75 % of florets open; and the fruiting or phase 4 (BBCH 69): during fruit ripening.

The phenological phase was defined as the mean phenological status of the population for each species, in a specific date and place, subsequently grouped by type of plant cover: scrub, riverbank and pasture. Phenophases were plotted from 1st of March of each year, at pre-flowering (phase 0).

This study was focused on 12 species displaying a plant cover of at least 30 inflorescences/m² per population. In summary, approx. 30 inflorescences of each species per sampling site were studied: *Bromus madritensis* L., *Bromus diandrus* Roth., *Bromus hordeaceus* L., *Hordeum leporinum* Link., *Avena barbata* Pott ex Link., *Vulpia geniculata* (L.) Link., *Stipa capensis* Thumb., *Arrhenatherum album* (Vahl.) W.D. Clayton, *Aegilops geniculata* Roth., *Lolium rigidum* Gaudin, *Trisetaria panicea* (Lam.) Paunero and *Dactylis glomerata* L. For this reason, those species with lower plant cover were omitted.

2.5 Statistical analysis

Analysis covered 12 species in the three studied plant covers over 13 years. The temporal trends for start of

flowering (phase 1) with a clear flowering advance or delay were analyzed by linear regression and significance values; p-values lower than 0.05 were considered significant. This analysis has been also applied to airborne pollen, both annual pollen index (API) and pollen peak day.

3 Results

3.1 Aerobiological data

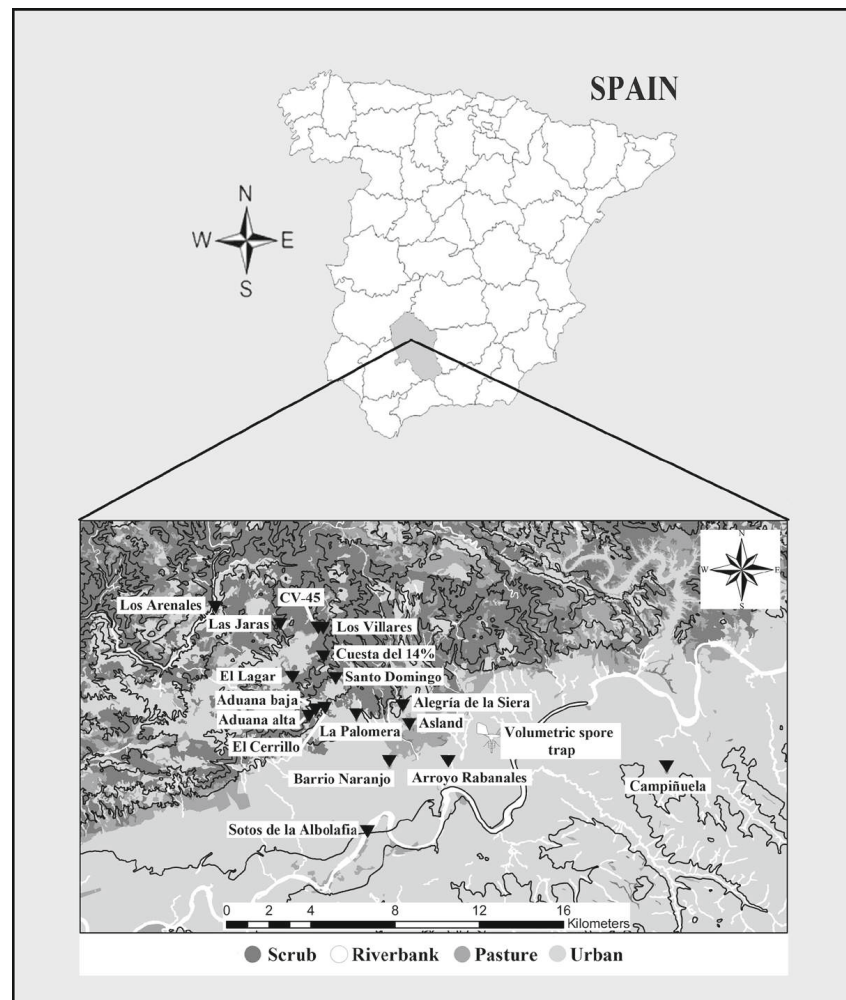
Characteristics of Poaceae pollen seasons for each study year (2000–2013) are shown in Table 1. Pollen season start occurred in the second half of April, except in 2000 and 2007 (early May), and in 2011 and 2012 (early April); the earliest pollen season start date was April 7, 2012, and the latest May 7, 2007. The pollen season ended roughly in the second half of June, except in 2005 and 2006 (early June); end dates ranged from 10th June (2006) to 30th June (2008, 2010 and 2011). The longest pollen season was recorded in 2011 (81 days) and the shortest in 2012 (43 days). The highest pollen peak was recorded in 2013 (1158 pollen grains/m³ of air), but the highest annual pollen index (API) was observed for 2007 (8767 pollen grains). A gradual and slight delay (not statistically significant) in the peak day has been shown during the study period. Regarding the annual pollen index (API), neither statistical significant trends have been obtained, but with a positive slight trend during the earlier years (2000–2007) and negative from 2008 until 2012. The highest values were recorded in 2013 (Table 1).

3.2 Meteorological data

Over the study period, the wettest period prior to the pollen season occurred in 2010 and 2013, while the driest years were 2000, 2005, 2007 and 2012 (Table 2).

3.3 Phenological data

Some study species flowered in early spring (*Bromus madritensis*, *Bromus diandrus*, *Bromus hordeaceus*, *Hordeum leporinum*, *Avena barbata* and *Vulpia geniculata*) and others in late spring (*Stipa capensis*, *Arrhenatherum album*, *Aegilops geniculata*, *Lolium*



Sample sites	UTM X	UTM Y
Aduana alta	340791	4199206
Aduana baja	340489	4198914
Alegria de la Sierra	344926	4199407
Arroyo Rabanales	347094	4196752
Asland	345252	4198511
Barrio Naranjo	344300	4196752
Campiñuela	357483	4196492
Cuesta del 14%	341181	4201771
CV-45	340908	4203137
El Cerrillo	341237	4199289
El Lagar	339695	4200782
La Palomera	342737	4198985
Las Jaras	339117	4203327
Los Arenales	336033	4204111
Los Villares	341149	4203129
Santo Domingo	341758	4200722
Sotos de la Albolafia	343274	4193395

Fig. 1 Sampling sites with UTM coordinates

Table 1 Characteristics and trends of Poaceae pollen seasons for each study year (2000–2013)

Years	Start	End	No. of days	Peak day	Pollen grains/m ³ of air Peak day	Annual pollen index
2000	125 (04-May)	171 (19-Jun)	46	152 (30-May)	404	3241
2001	115 (25-Apr)	171 (20-Jun)	56	145 (25-May)	775	7084
2002	115 (25-Apr)	171 (20-Jun)	56	141 (21-May)	807	7163
2003	118 (28-Apr)	168 (17-Jun)	50	140 (20-May)	856	6520
2004	121 (30-Apr)	177 (25-Jun)	56	152 (30-May)	475	3333
2005	112 (22-Apr)	163 (12-Jun)	51	125 (05-May)	130	1424
2006	110 (20-Apr)	161 (10-Jun)	51	139 (19-May)	356	4570
2007	127 (07-May)	177 (26-Jun)	50	134 (14-May)	863	8767
2008	113 (22-Apr)	182 (30-Jun)	69	140 (19-May)	757	6592
2009	117 (27-Apr)	179 (28-Jun)	62	135 (15-May)	273	3407
2010	114 (24-Apr)	181 (30-Jun)	67	149 (29-May)	510	7243
2011	100 (10-Apr)	181 (30-Jun)	81	135 (15-May)	277	5190
2012	128 (07-Apr)	171 (19-Jun)	43	151 (29-May)	202	2902
2013	108 (18-Apr)	176 (25-Jun)	68	132 (12-May)	1158	8154
			Slopes		R^2	p
Start			−0.5296		0.0836	0.3158
Peak day			−0.5054		0.0656	0.3764
Pollen grains/m ³ of air peak day			−5.0879		0.0047	0.8144
Annual Pollen Index			55.4769		0.0105	0.7272

Table 2 Cumulative rainfall and cumulative average temperature for March (M), February–March (FM) and January–February–March (JFM) for each study year (2000–2013)

Years	PrepJFM (mm)	PrepFM (mm)	PrepM (mm)	TmedJFM (°C)	TmedFM (°C)	TmedM (°C)
2000	59.3	35.2	35.0	1069.1	819.9	453.1
2001	362.8	227.3	197.1	1126.6	801.6	474.7
2002	175.2	134.7	130.6	1104.8	779.4	459.1
2003	231.1	155.6	53.9	1017.6	742.9	465.9
2004	190.6	173.0	85.6	1064.5	740.5	402.2
2005	75.4	75.4	17.5	894.6	665.8	435.1
2006	197.6	125.9	67.3	984.2	717.0	434.2
2007	107.1	93.8	30.5	1058.9	770.4	412.6
2008	128.5	58.5	6.5	1170.3	828.4	435.9
2009	217.9	153.8	70.7	1050.0	769.3	455.1
2010	456.0	310.6	104.0	1039.7	729.8	413.1
2012	19.5	5.6	3.9	829.7	605.0	405.3
2013	415.6	353.8	266.4	890.0	621.6	373.7

rigidum, *Trisetaria panicea* and *Dactylis glomerata*). Phenophases for the twelve species at different sampling sites (pasture, riverbank and scrub) throughout the study period are shown in Fig. 2.

A slight delay in flowering phases has generally been observed over the years when representing all species and populations (Fig. 3), only significant for phase 1 ($p < 0.1$); however, different behaviors have

been shown according to different species (Fig. 2): in pastureland, flowering took place progressively later in the three species of *Bromus* ($p < 0.05$), *Hordeum leporinum* ($p < 0.01$) and *Stipa capensis* ($p < 0.1$); in scrubland, *Trisetaria panicea* ($p < 0.05$) and *Dactylis glomerata* ($p < 0.001$) followed a flowering advance and *B. diandrus* ($p < 0.01$) and *B. madritensis* ($p < 0.05$) followed a flowering delay; and in riverbanks, no significant trend was observed in most species, with the exception of *B. hordeaceus* and *B. madritensis* that experienced a delay ($p < 0.05$) (Table 3).

Comparing trends in different plant covers for all species (Fig. 2; Table 3), a general delay in the timing of flowering phenophases has been observed in pastures and scrub ($p < 0.05$); on riverbanks, a slight delay in flowering was recorded in the course of the study period, but not statistically significant.

When comparing flowering phenophases vs. airborne pollen, it has been observed that the full flowering period (phase 2) in most species occurred earlier than the pollen peak day. The species and population with full flowering during the pollen peak during several years are: *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea*, *Aegilops geniculata* and *Dactylis glomerata* in pastureland; *Lolium rigidum*, *Dactylis glomerata* and *Aegilops geniculata* in riverbanks; and *Dactylis glomerata*, *Arrhenatherum album*, *Lolium rigidum*, *Aegilops geniculata*, *Trisetaria panicea* and *Vulpia geniculata* in scrub (Fig. 2). *Lolium rigidum*, *Dactylis glomerata* and *Aegilops geniculata* full flowering coincided with the pollen peak in some populations during several years. *Arrhenatherum album* is only presented in scrub, but full flowering also coincided with the pollen curve in some years.

4 Discussion

Airborne pollen concentrations are regarded as a good biological indicator for studying reproductive phenology in anemophilous plants (Menzel 2002). The pollen season usually coincides with flowering, but in many cases, it also depends on a number of factors including weather conditions, atmospheric stability, soil status and plant age (Kasprzyk 2009). Herbaceous plants, including most Poaceae species, usually display a more immediate response to weather conditions than woody species (Alcázar et al. 2009; Dahl et al. 2013).

Long-term phenological databases provide an opportunity to chart phenological trends and monitor the impact of climate change on plants. Most research has focused on Northern and Central Europe (Menzel et al. 2006, Cook et al. 2012), while few papers have addressed the Mediterranean region (Peñuelas et al. 2002; Gordo and Sanz 2005). A number of studies have looked at the behavior of populations in a range of environmental conditions, taking into account the degree of sun exposure, soil type and different types of plant cover. The present study examined flowering phenology in different plant covers following prior studies (Frenguelli et al. 2010; León-Ruiz et al. 2011; Tormo et al. 2011).

According to León-Ruiz et al. (2011), longer phenophases over the last decade, and so a longer pollen season, are observed during wetter years in Córdoba. Conversely, drier years are associated with shorter phenophases and in general a shorter pollen season. These findings were confirmed here over a longer study interval with recent years, with a clear statistically significant advance or delay in start of flowering (phase 1) in some studied species. Shorter pollen seasons with lower annual pollen concentrations were recorded during the driest years (2000, 2005, 2007 and 2012). The pollen season started around the second fortnight in April and ended around the second fortnight in June. The longest pollen season was observed in the wet year 2011 (81 days) and the shortest in the driest year of the study period, 2012 (43 days). The highest pollen peak (1158 pollen grains/m³ of air) was recorded during the rainiest year (2013). The peak pollen day usually occurred in the second half of May, as observed in earlier studies (Fernández-González et al. 1999; García-Mozo et al. 2009). Rainfall exerts a major influence during the pollen season, washing out the atmosphere and/or blocking pollen emission; this is evident in the variations in pollen season severity reported in earlier papers (Silva-Palacios et al. 2000; Barnes et al. 2001; Sánchez-Mesa et al. 2005; Smith and Emberlin 2006; Pérez et al. 2009; Recio et al. 2010).

When comparing flowering phenology of different species and airborne pollen, this study has shown that most species bloom before detecting the pollen peak in the curve and similar results have been observed in Badajoz, Spain (Tormo et al. 2011). The authors attributed this to grass flowering phenology not being clear probably because many species do not open their

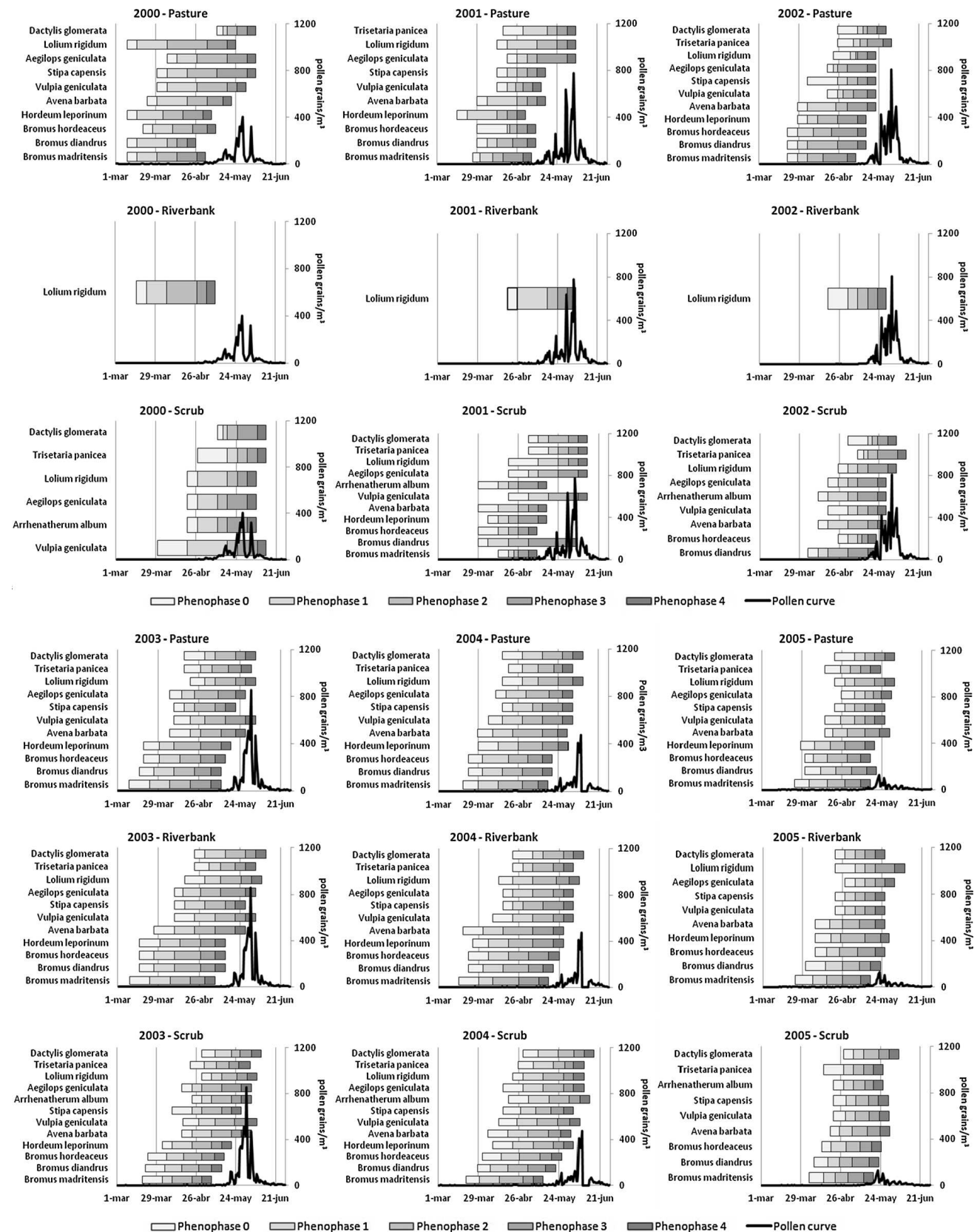


Fig. 2 Pollen curve and phenological behavior of different Poaceae species in different land covers for each year (2000–2013)

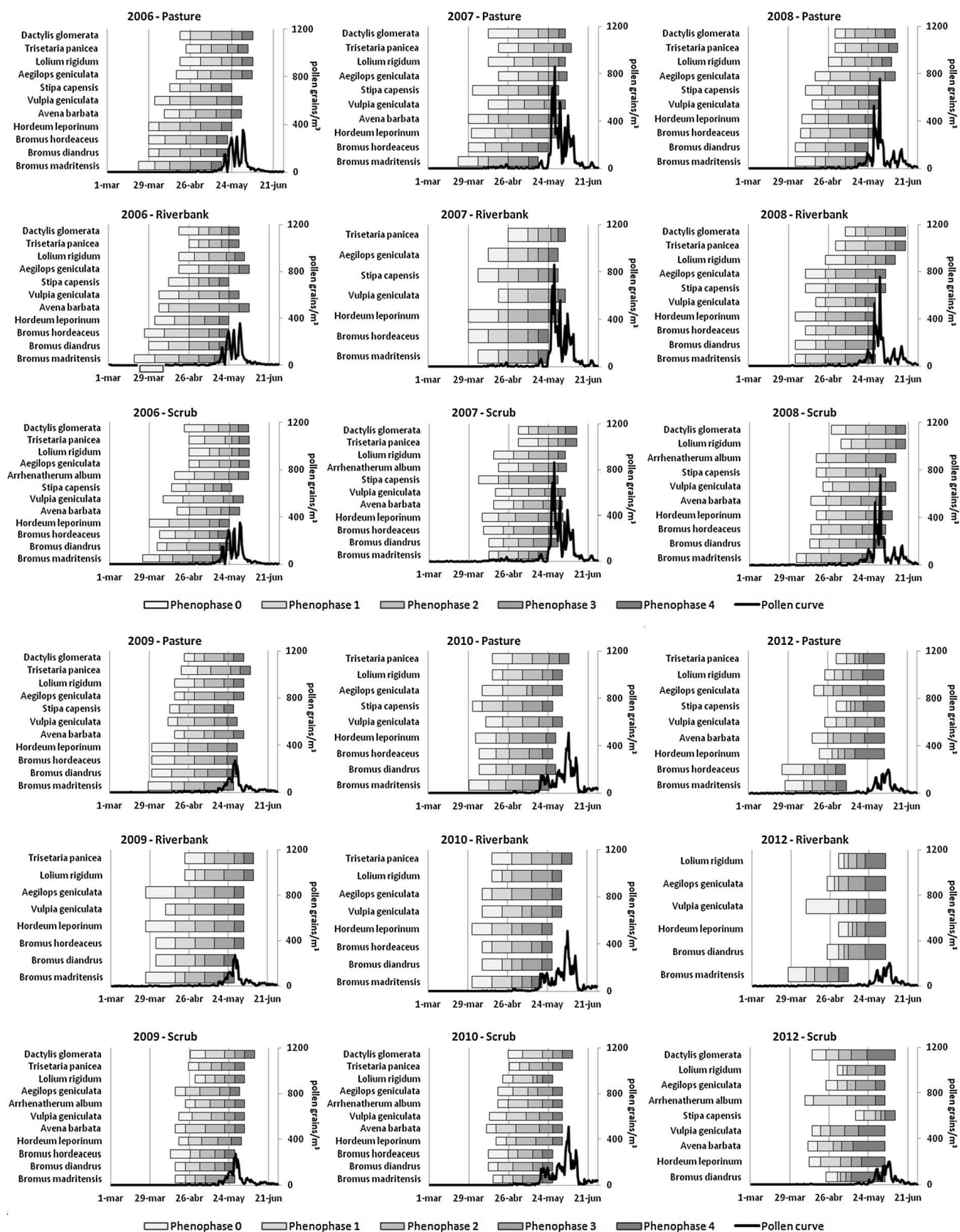


Fig. 2 continued

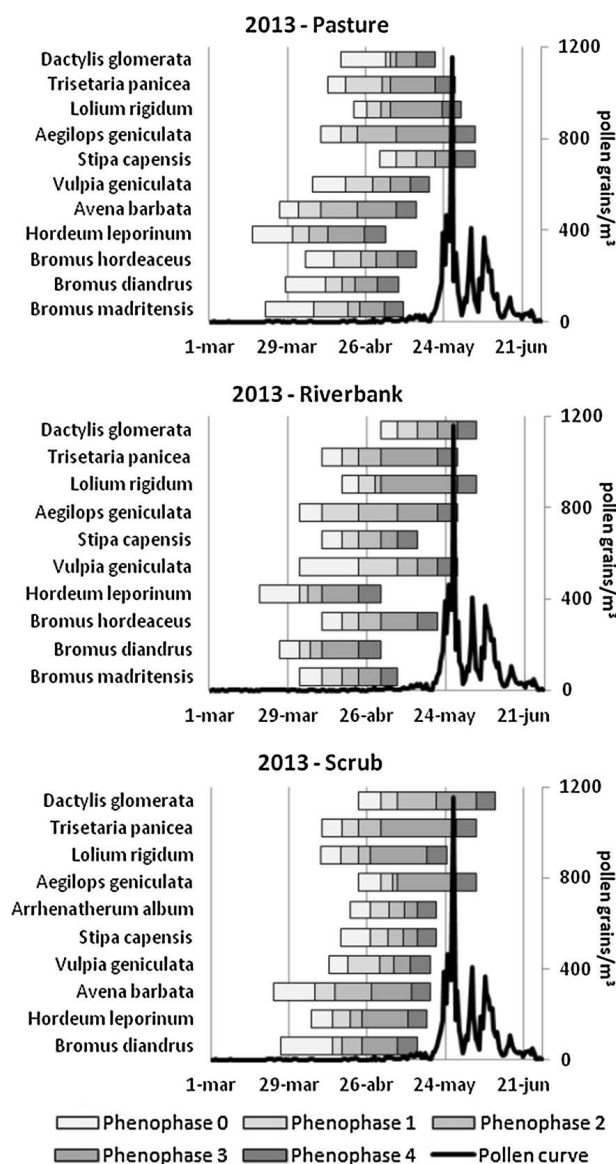


Fig. 2 continued

spikelets for pollen emission. On the other hand, there are also important differences in pollen production among the different species (Prieto-Baena et al. 2003; Aboulaich et al. 2009), and it can also contribute to the species being better represented in the pollen curve. In Italy, Frenguelli et al. (2010) have also observed grass species blooming before and after the maximum pollen concentrations in the air. Due to the fact that airborne grass pollen is the main cause of pollinosis in Europe, and grasses represent high number of species with different presence and behavior, these researchers recommend phenological observations when planning clinical trials with medications for grass pollen allergy.

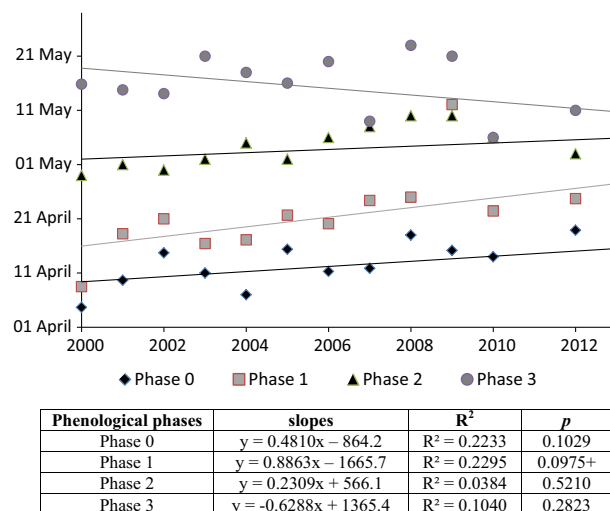


Fig. 3 Mean dates of phenological phases vs. time (year) with linear regression line showing trends during the study period. +if trend at $\alpha = 0.1$ level of significance

Previous research in Córdoba has shown that the greatest contribution to the pollen curve is from natural areas including mountains and riverbanks (León-Ruiz et al. 2011). Grass species flower later at higher altitudes, but the pollen released from mountainous populations can be transported to the city (León-Ruiz et al. 2011; Jochner et al. 2012); our data support these results, scrub areas and—to a lesser extent—riverbanks were probably the greatest contributors to the pollen curve. This study has focused on spring flowering species that display a plant cover of at least 30 inflorescences/m², and it is likely that less represented species have contributed to the pollen curves.

Pasture ecosystems are among the plant cover types most sensitive both to water availability (Dickinson and Dodd 1976) and to temperature changes (French and Sauer 1974). A phenological delay has been recorded, i.e., *Bromus* sp., over the study period in pastureland; in scrubland, *Dactylis glomerata* and *Trisetaria panicea* have been the only species that have shown a clear flowered advance. The same conditions can influence phenology in different grass species differently due to responses to global warming (Chuine et al. 2000; Grzegorz 2011). However, no significant trend was observed in riverbanks, as water availability or other environmental factors probably influence the growth of flowering species. The development of grasses is positively influenced by water availability, especially in Mediterranean areas (Clary

Table 3 Temporal trends for start of flowering (phase 1) of 12 species in three plant cover over the study period (2000–2013)

Poaceae species	Plant cover	Slopes	R^2	p
<i>Aegilops geniculata</i>	Pasture	0.2221	0.0174	0.6671
	Riverbank	−0.8041	0.1020	0.3683
	Scrub	0.2000	0.0594	0.4971
<i>Arrhenatherum album</i>	Pasture	—	—	—
	Riverbank	—	—	—
	Scrub	−0.4147	0.0958	0.3033
<i>Avena barbata</i>	Pasture	0.9066	0.1747	0.2007
	Riverbank	2.5000	0.2319	0.5184
	Scrub	−0.2972	0.0340	0.5656
<i>Bromus diandrus</i>	Pasture	1.8851	0.6468	0.0028**
	Riverbank	1.7845	0.3008	0.1262
	Scrub	1.5705	0.5192	0.0081**
<i>Bromus hordeaceus</i>	Pasture	1.1504	0.3411	0.0360*
	Riverbank	1.7541	0.5752	0.0178*
	Scrub	1.1078	0.1791	0.2229
<i>Bromus madritensis</i>	Pasture	1.7336	0.6324	0.0011**
	Riverbank	1.6463	0.4223	0.0419*
	Scrub	3.1388	0.6850	0.0112*
<i>Dactylis glomerata</i>	Pasture	−0.6057	0.1645	0.2447
	Riverbank	0.8320	0.2480	0.3147
	Scrub	−1.1131	0.6657	0.0006***
<i>Hordeum leporinum</i>	Pasture	2.0199	0.4778	0.0088**
	Riverbank	1.3566	0.1629	0.2472
	Scrub	0.6316	0.1684	0.2387
<i>Lolium rigidum</i>	Pasture	1.3587	0.1867	0.1402
	Riverbank	1.1012	0.1548	0.2056
	Scrub	−0.4241	0.0650	0.4235
<i>Stipa capensis</i>	Pasture	1.2245	0.2864	0.0594
	Riverbank	−0.3173	0.0527	0.6202
	Scrub	1.3900	0.2640	0.1926
<i>Trisetaria panicea</i>	Pasture	−0.0964	0.0043	0.8386
	Riverbank	−1.0675	0.2279	0.2315
	Scrub	−1.6848	0.5156	0.0128*
<i>Vulpia geniculata</i>	Pasture	0.7402	0.2082	0.1170
	Riverbank	0.2247	0.0280	0.6439
	Scrub	−0.5335	0.2239	0.1023
All species	Pasture	0.6809	0.3542	0.0318*
	Riverbank	0.6478	0.0810	0.3458
	Scrub	0.6536	0.3418	0.0358*

*** if trend at $\alpha = 0.001$ level of significance

** if trend at $\alpha = 0.01$ level of significance

* if trend at $\alpha = 0.05$ level of significance

et al. 2004). On the other hand, these results notice that *Lolium rigidum*, *Dactylis glomerata*, *Aegilops geniculata* and *Arrhenatherum album* full flowering coincide with the pollen peak in some populations during several years.

The present study found that *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* and *Vulpia geniculata* are possible contributors to the pollen curve, which supports the work in Spain by León-Ruiz et al. (2011). Although *Aegilops geniculata* full flowering

coincided with pollen peak in the three plant covers, this species is not a main grass pollen contributor (Prieto-Baena et al. 2003; Aboulaich et al. 2009). In addition, other populations that were not studied are also likely contributors to the pollen curve. Future studies should be focused on different grass population densities in the Córdoba City and the surrounding hills.

5 Conclusion

Although most Poaceae species displayed similar flowering phenology profiles under different weather conditions and in different types of plant cover, some species exhibited differences in the timing of flowering over the study period in different environments. In pastureland and scrubland, a trend toward a slight delay trend has been recorded over the study period; *Dactylis glomerata* and *Trisetaria panicea* have been the only species that have experienced a clear trend in earlier flowering in scrubland. For *Lolium rigidum*, *Dactylis glomerata*, *Aegilops geniculata* and *Arrhenatherum album* full flowering coincided with the pollen peak in some populations during several years. These studies are important for better understanding the airborne pollen curve; however, it is important to support these results with future studies on different grass population densities in the Córdoba City and the surrounding hills.

Acknowledgments This study was partly supported by project “CGL2014-54731-R. Study on phenological trends in plants of Western Mediterranean and its relation to climate change (FENOMED),” financed by the Minister of Science and Innovation. The authors are also grateful to the following projects for funding this work: “Analysis and Dynamic of Airborne Pollen in Andalusia (P10-RNM-5958),” the Research Project of Excellence of the Andalusia Regional Government.

References

- Aboulaich, N., Bouziane, H., Kadiri, M., del Mar Trigo, M., Riadi, H., Kazzaz, M., et al. (2009). Pollen production in anemophilous species of the Poaceae family in Tetouan (NW Morocco). *Aerobiologia*, 25(1), 27–38.
- Agencia Estatal de Meteorología. (2001). *Guía resumida del clima en España 1971–2000*. Madrid: Serie estadística, Ministerio de Medio Ambiente.
- Alcázar, P., Stach, A., Nowak, M., & Galán, C. (2009). Comparison of airborne herb pollen types in Córdoba (Southwestern Spain) and Poznań (Western Poland). *Aerobiologia*, 25(2), 55–63.
- Barbieri, R., Botarelli, L., Salsi, A., & Zinoni, F. (1989). *Guida alle rilevazioni agrofenologiche ed alla compilazione delle schede di rilevamento per le colture erbacee ed arboree*. Bologna: E.R.S.A.
- Barnes, C., Pacheco, F., Landuyt, J., Hu, F., & Portnoy, J. (2001). The effect of temperature, relative humidity and rainfall on airborne ragweed pollen concentrations. *Aerobiologia*, 17(1), 61–68.
- Chuine, I., Cambon, G., & Comtois, P. (2000). Scaling phenology from the local to the regional level: Advances from species-specific phenological models. *Global Change Biology*, 6(8), 943–952.
- Clary, J., Savé, R., Biel, C., & Herralde, F. (2004). Water relations in competitive interactions of Mediterranean grasses and shrubs. *Annals of Applied Biology*, 144(2), 149–155.
- Cook, B. I., Wolkovich, E. M., & Parmesan, C. (2012). Divergent responses to spring and winter warming drive community level flowering trends. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(23), 9000–9005.
- D’Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62(9), 976–990.
- D’Amato, G., Spiekma, F. T. M., Licardi, G., Jäger, S., Russo, M., Kontou-Fili, K., et al. (1998). Pollen related allergy in Europe. *Allergy*, 53(6), 567–578.
- Dahl, Å., Galán, C., Hajkova, L., Pauling, A., Sikoparija, B., Smith, M., et al. (2013). The onset, course and intensity of the pollen season. In M. Sofiev & K. C. Bergmann (Eds.), *Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts* (pp. 29–70). Dordrecht: Springer.
- Dickinson, C. E., & Dodd, J. L. (1976). Phenological pattern in the Shortgrass Prairie. *American Midland Naturalist*, 96(2), 367–378.
- Domínguez-Vilches, E., Cariñanos, P., Galán, C., Guerra, F., García-Pantaleón, F. I., & Villamandos, F. (1995). Airborne pollen concentrations, solid particle content in the air and allergy symptoms in Córdoba (Spain). *Aerobiologia*, 11(2), 129–135.
- Dyer, M. I., Detling, J. K., Coleman, D. C., & Hilbert, D. W. (1982). The role of herbivores in grasslands. In J. R. Estes, R. J. Tylr, & J. N. Brunken (Eds.), *Grasses and grasslands: Systematics and ecology* (pp. 255–295). Norman: Univ. Oklahoma Press.
- Fernández-González, D., Valencia-Barrera, R. M., Vega, A., Díaz De La Guardia, C., Trigo, M. M., Cariñanos, P., et al. (1999). Analysis of grass pollen concentrations in the atmosphere of several Spanish sites. *Polen*, 10, 127–136.
- French, N., & Sauer, R. H. (1974). Phenological studies and modelling in grassland. In H. Leith (Ed.), *Phenology and seasonality modeling* (pp. 227–236). New York: Springer.
- Frenguelli, G., Passalacqua, G., Bonini, S., Fiocchi, A., Incorvaia, C., Marcucci, F., et al. (2010). Bridging allergologic and botanical knowledge in seasonal allergy: A role for phenology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 105(3), 223–227.


- Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., & Domínguez-Vilches, E. (2007). *Spanish aerobiology network (REA): Management and quality manual*. Córdoba: Servicio de publicaciones, Universidad de Córdoba.
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., et al. (2014). Pollen monitoring: Minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*, 30(4), 385–395.
- García-Mozo, H., Galán, C., Belmonte, J., Bermejo, D., Candau, P., Díaz de la Guardia, C., et al. (2009). Predicting the start and peak dates of the Poaceae pollen season in Spain using process-based models. *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(2), 256–262.
- Gordo, O., & Sanz, J. J. (2005). Phenology and climate change: A long-term study in a Mediterranean locality. *Oecologia*, 146(3), 484–495.
- Grzegorz, Ż. (2011). Effect of climate change on phenology of forage grass species. *Journal of Life Sciences*, 5(9), 201.
- Heywood, V. H., Moore, D. M., Richardson, I. B. K., & Stearn, W. T. (1985). *Las plantas con flores*. Barcelona: Ed. Reverté.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2), 257–265.
- Jochner, S., Ziello, C., Böck, A., Estrella, N., Buters, J., Weichenmeier, I., et al. (2012). Spatio-temporal investigation of flowering dates and pollen counts in the topographically complex Zugspitze area on the German–Austrian border. *Aerobiologia*, 28(4), 541–556.
- Kasprzyk, I. (2009). Forecasting the start of Quercus pollen season using several methods—The evaluation of their efficiency. *International Journal of Biometeorology*, 53(4), 345–353.
- León-Ruiz, E., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2011). Study of Poaceae phenology in a Mediterranean climate. Which species contribute most to airborne pollen counts? *Aerobiología*, 21(1), 37–50.
- León-Ruiz, E. J., García-Mozo, H., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2012). The use of geostatistics in the study of floral phenology of *Vulpia geniculata* (L.) Link. *The Scientific World Journal*, 2012(2012), 624247.
- Mandrioli, P., & Ariatti, A. (2001). Aerobiology: Future course of action. *Aerobiologia*, 17(1), 1–10.
- Menzel, A. (2002). Phenology: Its importance to the global change community. *Climatic Change*, 54(4), 379–385.
- Menzel, A., Sparks, T. H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., et al. (2006). European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology*, 12(10), 1969–1976.
- Peñuelas, J., Filella, I., & Comas, P. (2002). Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Global Change Biology*, 8(6), 531–544.
- Pérez, C. F., Gassmann, M. I., & Covi, M. (2009). An evaluation of the airborne pollen-precipitation relationship with the superposed epoch method. *Aerobiologia*, 25(4), 313–320.
- Prieto-Baena, J. C., Hidalgo, P. J., Domínguez, E., & Galán, C. (2003). Pollen production in the Poaceae family. *Grana*, 42(3), 153–159.
- Recio, M., Docampo, S., García-Sánchez, J., Trigo, M. M., Melgar, M., & Cabezero, B. (2010). Influence of temperature, rainfall and wind trends on grass pollination in Malaga (western Mediterranean coast). *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(7), 931–940.
- Roetzer, T., Wittenzeller, M., Haeckel, H., & Nekovar, J. (2000). Phenology in central Europe—Differences and trends of spring phenophases in urban and rural areas. *International Journal of Biometeorology*, 44(2), 60–66.
- Sánchez-Mesa, J. A., Galán, C., & Hervás, C. (2005). The use of discriminant analysis and neural networks to forecast the severity of the Poaceae pollen season in a region with a typical Mediterranean climate. *International Journal of Biometeorology*, 49(6), 355–362.
- Sánchez-Mesa, J. A., Smith, M., Emberlin, J., Allitt, U., Caulton, E., & Galán, C. (2003). Characteristics of grass pollen seasons in areas of southern Spain and the United Kingdom. *Aerobiologia*, 19(3–4), 243–250.
- Schwartz, M. D. (2003). Introduction. In M. D. Schwartz (Ed.), *Phenology: An integrative environmental science* (pp. 1–5). Dordrecht: Springer.
- Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., & Muñoz-Rodríguez, A. F. (2000). Influence of wind direction on pollen concentrations in the atmosphere. *International Journal of Biometeorology*, 44(3), 128–133.
- Smith, M., & Emberlin, J. (2006). A 30-day-ahead forecast model for grass pollen in north London, United Kingdom. *International Journal of Biometeorology*, 50(4), 233–242.
- Tormo, R., Silva, I., Gonzalo, Á., Moreno, A., Pérez, R., & Fernández, S. (2011). Phenological records as a complement to aerobiological data. *International Journal of Biometeorology*, 55(1), 51–65.
- Watson, L., & Dallwitz, M. J. (1992). *The grass genera of the world: Descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; Including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references*. Version: 18th August 1999. <https://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/delta/grass/index.htm>. Accessed March 15, 2015.



6. CAPÍTULO II

***Spatio-temporal flowering patterns in
Mediterranean Poaceae. A community study in SW
Spain***

Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain

J. Cebrino¹  · J. L. García-Castaño² · E. Domínguez-Vilches¹ · C. Galán¹

Received: 14 May 2017 / Revised: 24 August 2017 / Accepted: 2 October 2017
© ISB 2017

Abstract This study focused on phenological timing and spatial patterns in 30 Poaceae species flowering in spring in different types of plant cover (scrub, riverbank and pasture). Grass community composition was studied, and the influence of species and plant cover on the start date and duration of flowering was assessed from March to June in both 2014 and 2015. Twenty-nine sampling sites were selected for phenological monitoring using the BBCH scale. Data were subjected to GLMM analyses. Binary discriminant analysis revealed differences in grass community composition as a function of plant cover type; scrub cover comprised a considerably larger number of species than those in riverbank and pasture. Moreover, more species diversity was observed in 2014 than in 2015 with a drier and stressed pre-flowering period. Differences on phenology were also recorded between plant cover types and study years. Species in pasture and riverbank flowered before (113.4 days; 116.1 days) than species in scrub (120.9 days), being these species with shorter flowering length because they are more exposed to the characteristic of the Mediterranean region during the summer. In general, flowering onset occurred later in 2014 (118.2 days) than in 2015 (115.8 days), probably attributable to precipitation occurring during March. On the other hand, spatial autocorrelation within some cover types has been observed, showing spatial patterns exist at a smaller scale. The findings of this study

contribute to a better understanding of grass phenology in different environments.

Keywords Grasses · Plant cover · Phenology · Spatial patterns · Flowering

Introduction

Phenology is the study of recurrent biological events and the way they change in response to variations in climate (Schwartz 2013). Over the last 15 years, the importance of this discipline to the science of climate change has been increasingly acknowledged (Richardson et al. 2013). In addition, ecological and evolutionary research has started to focus on phenology (Forrest and Miller-Rushing 2010), mostly in N and C Europe (Menzel et al. 2006; Cook et al. 2012); few studies have yet addressed the Mediterranean region (Peñuelas et al. 2002; Gordo and Sanz 2005).

Phenology is essential in order to understand how plant life cycles respond to changes in temperature and rainfall (Phillips and Allen 2015). For monitoring purposes, most studies tend to subdivide the life cycle into identifiable sections along a time axis; these subdivisions are known as phenophases (Meier 2001). Phenological findings provide a valuable primary indicator of changes in plant population behaviour at species level in response to climate variations (Dai et al. 2013); changes in flowering time are among the most obvious (Chapin et al. 2008).

Poaceae (grasses) form a ubiquitous family, comprising over 700 genera and around 10,000 species (Watson and Dallwitz 1992) and occurring in a wide range of ecosystems (Lee et al. 2014). It ranks among the major flowering-plant families and is surpassed in diversity only by Asteraceae, Orchidaceae, Fabaceae and Rubiaceae (Devesa and Carrión

✉ J. Cebrino
jcebrinocruz@gmail.com

¹ Department of Botany, Ecology and Plant Physiology, University of Córdoba, Córdoba, Spain

² Department of Plant Biology and Ecology, University of Seville, Seville, Spain

2012). A number of papers examine airborne grass-pollen concentrations, providing information on the timing and intensity of flowering (i.e., Sánchez-Mesa et al. 2003, 2005; García-Mozo et al. 2009). Some studies have supported annual fluctuations governed by exogenous processes, such as temperature and water availability. However, some other evidence that these fluctuations in grasses are also regulated by endogenous processes, observing a positive trend on flowering intensity during decades (García-Mozo et al. 2010; García de León et al. 2015) and presenting to grasses as more tolerant than other herbaceous plants to climate stress in the Iberian Peninsula (Galán et al. 2016). However these studies tend to deal jointly with all the Poaceae species growing at a site. Given the need to determine which species contribute most to the airborne pollen spectrum, some papers have compared the total pollen production per inflorescence or per plant in different species (Prieto-Baena et al. 2003; Aboulaich et al. 2009), while others have studied phenological behaviour. Recent research has focused on the relationship between flowering phenology and airborne pollen (Tormo et al. 2011; León-Ruiz et al. 2011, 2012; Frenguelli et al. 2010; Cebrino et al. 2016; Kmenta et al. 2016; Ghitarrini et al. 2017), with some authors observing that only certain species contribute substantially to the pollen curve. Despite the ecological importance of this large family and the clear impact of its pollen on human health, i.e., pollinosis, less attention has been paid to the phenological behaviour of different grass populations located in different types of plant cover. This is the first study designed to consider the influence of the grass species, the plant cover and the study year in phenology. The knowledge of the relevance of these effects, both separately as well as interacting, would give more accurate information of how environment could affect phenology on grass community well directly well by means of other factors.

The main goal has been to analyse the spatial and temporal patterns of flowering in a Poaceae species community in Southern Spain. The specific goals were (a) to study the grass community composition in different types of plant cover and (b) to assess the influence of plant cover, species and study year on the start and duration of flowering.

Materials and methods

Study area

This study was conducted in Córdoba City and the nearby Sierra Morena hills, from March to June, in 2014 and 2015. Córdoba City (30S UTM X: 341,642; UTM Y: 4,192,085) is located in the SW Iberian Peninsula. The city lies at 123 m a.s.l. in the Guadalquivir River valley and covers a surface area of 290.23 km². Córdoba has a Mediterranean-type climate, with some continental features, characterised by

cold temperate winters and hot dry summers. The mean annual temperature is 18.2 °C, and the mean annual rainfall is 605 mm (30-year averages, 1981–2010, data from the Spanish Meteorological Agency, AEMET 2011).

Plant cover

Three different plant cover types were examined in this study: (a) pasture, with grasses and other herbs and with a woody cover of less than 10% (Cerling et al. 2010); (b) scrub, defined by woody perennial cover (shrubs and young trees), usually exceeding the height of the grass layer (Hartel et al. 2013); and (c) riverbank, the land riverward of the top of the bank and including the near shore area (Greenworks et al. 2001).

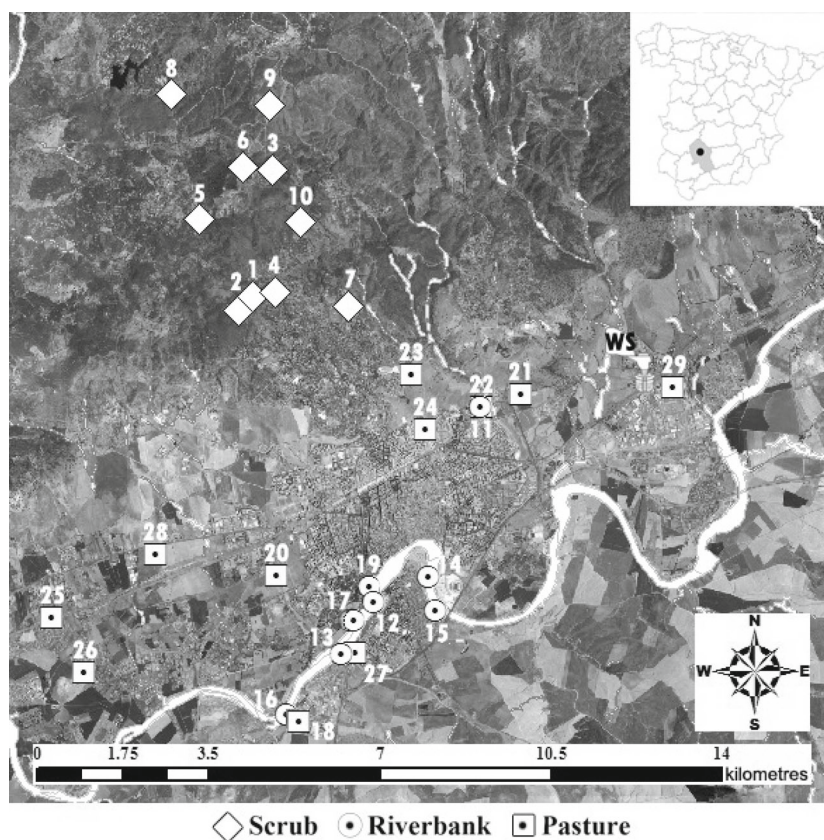
The sampling sites within the study area were randomly chosen for phenological monitoring, using the ArcGIS ver. 9.3.1 (ArcGIS9, ESRI Inc., Redlands, CA, USA; ArcGIS9 2009) and the QGIS ver. 2.8.2 (QGIS Development Team 2014). According to the Map of Uses and Plant Covers of Andalusia (CMA 2007), pixels that represented two of the three plant cover types (pasture and riverbank) were selected. The entire study area (Córdoba City) was delimited by a rectangle, and the four corners (latitude and longitude in degrees) were numbered. Sample pasture points were obtained through a table with random pixels (10,000 pixels, with a size of 0.5 km × 0.5 km) inside this rectangle. This process was repeated for each plant cover. Points were finally selected for sampling site when: (a) the pixel located in the plant cover of interest and (b) the location had a good accessibility. To locate the riverbank sampling points, the QGIS ver. 2.8.2 was used as follows: (a) they were selected as entire segments of equal geometric portions and (b) nine sites were randomly selected by following the same previous process. Ten sample scrub sites were selected following a previous phenological study sampling (Cebrino et al. 2016). Thus, 29 sites were selected for the different plant cover types considered (scrub, riverbank and pasture) in which various Poaceae species grew (Fig. 1).

The riverbank sampling points were described as grass species growing with other herbaceous plants near to the river area, and pasture sites were described as grass species growing in ruderal habitats inside of the urban area. Lastly, the scrub sampling sites were described as dense or scattered scrubland, close to shrub or tree species such as pines, oaks or olive trees.

Species and phenological observation

This study focused on 30 species displaying a plant cover of at least 30 individuals/m² for the populations growing there. Not all the 30 species were found in the three plant covers during the study period. In total, around 30 individuals at each species site were studied per sampling. The following annual species were studied: *Aegilops geniculata* Roth, *Aegilops*

Fig. 1 Sampling sites with plant covers, coordinates and altitude (m a.s.l.) as well as weather station coordinates. Spain



Id	Sampling site	Plant cover	Latitude and longitude	Altitude
1	Aduana Alta	Scrub	37.926486° -4.811485°	347
2	Aduana Baja	Scrub	37.923801° -4.814858°	402
3	Cuesta del 14%	Scrub	37.949627° -4.807589°	520
4	El Cerrillo	Scrub	37.927311° -4.806438°	306
5	El Lagar	Scrub	37.940494° -4.824304°	554
6	La Conejera	Scrub	37.950249° -4.814475°	565
7	La Palomera	Scrub	37.924790° -4.789388°	242
8	Las Jaras	Scrub	37.963314° -4.831453°	480
9	Los Villares	Scrub	37.961768° -4.808404°	594
10	Santo Domingo	Scrub	37.940276° -4.800915°	360
11	Asland	Riverbank	37.906667° -4.757655°	126
12	Borago	Riverbank	37.870337° -4.781898°	91
13	Cormorán	Riverbank	37.860653° -4.789064°	92
14	Erosky	Riverbank	37.875226° -4.769142°	93
15	Feria	Riverbank	37.869017° -4.767409°	96
16	IAS	Riverbank	37.849069° -4.804560°	90
17	Jardín Botánico	Riverbank	37.866897° -4.787168°	94
18	Policia	Riverbank	37.849367° -4.801663°	89
19	Sotos de la Albolafia	Riverbank	37.873262° -4.783003°	93
20	ABB	Pasture	37.874788° -4.804866°	115
21	Arroyo Rabanales	Pasture	37.909064° -4.748611°	141
22	Asland Pastizal	Pasture	37.906667° -4.757655°	126
23	Barrio Naranjo	Pasture	37.912302° -4.774339°	168
24	Ecoauto	Pasture	37.902448° -4.770691°	135
25	El Higuern	Pasture	37.866412° -4.856913°	116
26	Majaneque	Pasture	37.856256° -4.849008°	108
27	Mediamarkt	Pasture	37.861012° -4.786201°	99
28	PESI	Pasture	37.878411° -4.832941°	120
29	Tanatorio	Pasture	37.913975° -4.717818°	136
WS	Weather Station		37.856944° -4.802777°	117

triuncialis L., *Agrostis pourretii* Willd., *Avena barbata* Link, *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv., *Briza maxima* L., *Briza minor* L., *Bromus diandrus* Roth, *Bromus hordeaceus* L., *Bromus lanceolatus* Roth, *Bromus madritensis* L., *Cynosurus echinatus* L., *Hordeum leporinum* Link., *Lamarckia aurea* (L.) Moench, *Lolium rigidum* Gaudin, *Micropyrum tenellum* (L.) Link, *Phalaris paradoxa* L., *Rostraria cristata* (L.) Tzvelev, *Stipa capensis* Thunb., *Trisetaria panicea* (Lam.) Paunero, *Vulpia geniculata* (L.) Link and *Vulpia myuros* (L.) C.C. Gmel. Some perennial species were also studied: *Arrhenatherum album* (Vahl) W.D. Clayton, *Celtica gigantea* (Link) F.M. Vázquez and Barkworth, *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Dactylis glomerata* L., *Elymus repens* (L.) Gould., *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf, *Melica magnolii* Gren. and Godr. and *Piptatherum miliaceum* (L.) Coss.

The phenological phase records in grasses were based on the Barbieri system (Barbieri et al. 1989) during the phenological monitoring (years 2014 and 2015); afterwards, these phases were translated into the BBCH (Meier 2001): pre-flowering or phase 0 (BBCH < 60) comprises the period from plant emergence to flowering start; flowering start or phase 1 (approx. from BBCH = 60 to BBCH = 63), with less than 25% florets open; full flowering or phase 2 (approx. from BBCH = 63 to BBCH = 67), from 25 to 75% florets open; end of flowering or phase 3 (approx. from BBCH = 67 to BBCH = 69), with over 75% of florets open; fruiting or phase 4 (BBCH > 69), for fruit ripening.

Phenological status was defined as the mean of the population for each species, on a specific date and in a specific place, and subsequently grouped by type of plant cover: scrub, riverbank and pasture. Field observations started during March 1st in both years because during this month occurs the first phenological stage on early spring grasses in Córdoba (León-Ruiz et al. 2011; Cebriño et al. 2016).

Meteorological data

Daily average temperature and rainfall were obtained through the Spanish State Meteorological Agency (AEMET), from a local weather station located at latitude 37.856944° and longitude −4.802777° (117 m of altitude). Data were collected during pre-flowering (phase 0), i.e., from January to February, and throughout the whole flowering season.

Statistical analyses

As a first approach, a binary discriminant analysis was applied using the *binda* ver. 1.0.3. (Gibb and Strimmer 2015) package in R (R Core Team 2013) to establish whether different plant cover types displayed differences in grass species composition. Data supplied for this discriminant analysis considered the absence/presence (0/1) of each of the 30

studied species, for any of the two study years, on every sampling site (which had been previously classified into a particular plant cover type).

Secondly, General Linear Mixed Models (GLMMs) were applied to the phenological variables. Two dependent variables were considered: flowering onset (phase 1, measured as the Julian day from January 1st) and length of flowering period (from phase 1 to 4, measured in days). Explanatory variables were species, plant cover type and the study years as fixed effects (as all values of the variables of interest were included), and their first-order interaction. The study plot effect was nested within the plant cover and treated as a random effect (as not all values of the variables of interest were included); the latter was assessed using the Method of Moments—EMS (Expected Mean Square). First, only species common to the three plant cover types and both study years (i.e., the annuals *A. barbata*, *B. hordeaceus*, *B. madritensis*, *H. leporinum*, *L. rigidum* and *V. myuros*, and the perennial *P. miliaceum*) were considered. As none of these seven species-related interactions was significant, they were removed from the subsequent analyses, which considered all the 30 study species. Tukey's HSD post-hoc tests ($\alpha = 0.05$) were applied to test for pairwise differences, i.e., to identify those species that might be significantly distinguishable. *F* value significance was assessed according to the degrees of freedom of the effect considered and its error term (whose values were shown as successive subscripts). Mean \pm SE values were calculated across all data. These analyses were performed with the JMP 6 software (SAS Institute Inc.). Finally, to check for spatial auto-correlation in the flowering start date, Mantel tests were applied to geographical distance data and a matrix of the average number of days' difference in flowering onset for pairwise common species (Spearman correlation, 10,000 permutations; XLSTAT ver. 2015.01.24599, Addinsoft). Mantel tests were applied for each plant cover type and for each study year separately.

Results

Meteorological results

Mean temperature over the pre-flowering phase (phase 0), i.e., from January to February, was 8.6 °C in 2014 and 8.1 °C in 2015; mean temperature during the flowering season (March to June) was 18.5 °C in 2014 and 19.4 °C in 2015. Averages were thus fairly similar in the two study years, being the 2015 slightly warmer than 2014. However, there was a marked inter-year difference in rainfall: rainfall over the pre-flowering phase was considerably higher in 2014 (211.8 vs. 107.6 mm), while rainfall over the flowering season as a whole was higher in 2015 (62.0 vs. 96.9 mm).

Fig. 2 Binary discriminant analysis among plant covers (pasture, riverbank and scrub) based on the grass species composition. Peripheral figures show species presence (black)/absence (white) in the different study sites. Central graph shows the posterior assignment probabilities of these sites to each plant cover; the distance to the centre of the circular graph shows the probability of assignment to each plant cover. See Fig. 1 for sites

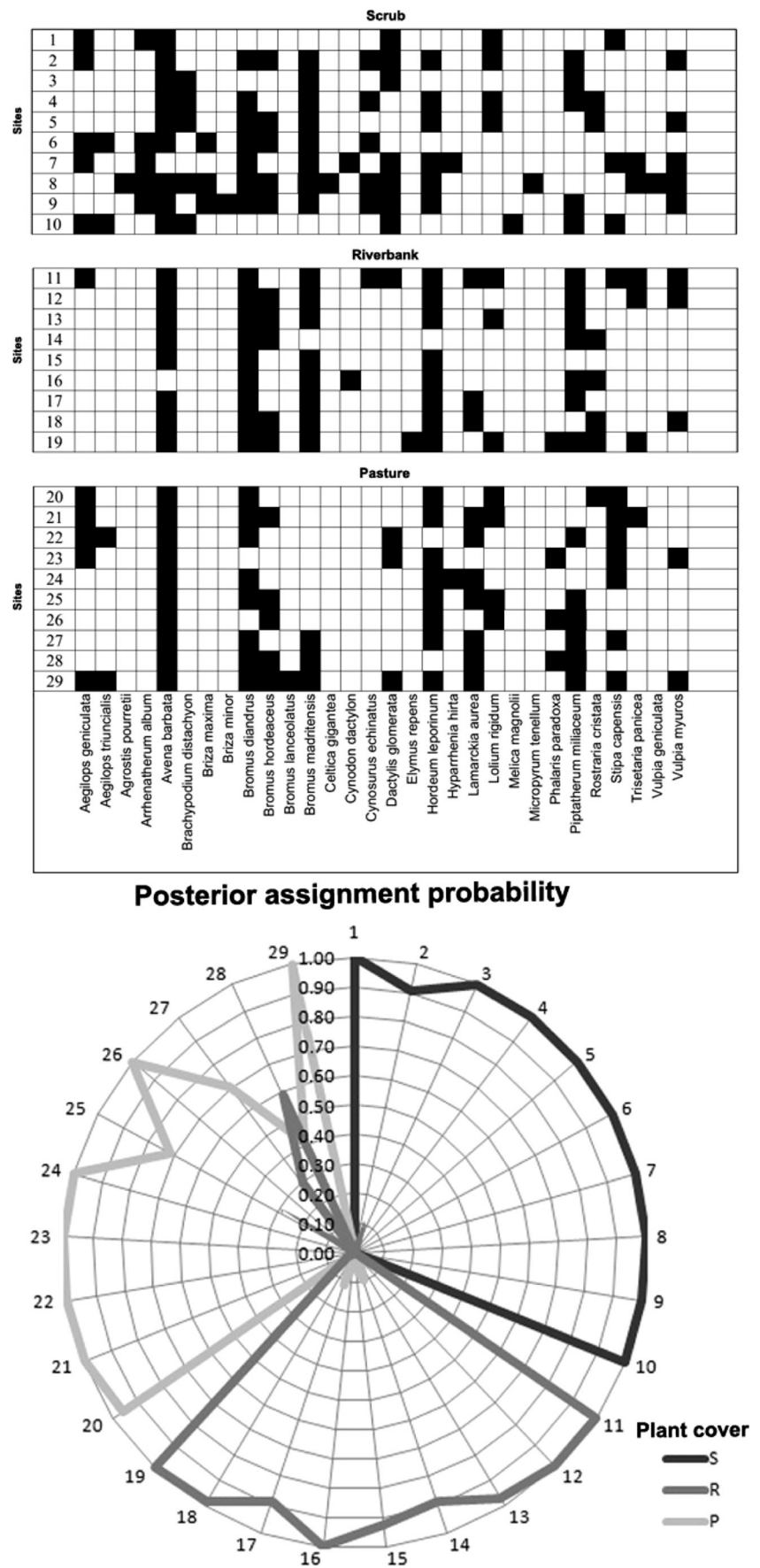


Table 1 GLMM results for the start of phenology of different Poaceae species in the three plant covers over the study period

Effect	MS	d.f.	F	P
Species	241.475	29	2.92	< 0.0001
Plant cover	729.443	2	5.05	0.0111
Year	525.685	1	6.36	0.0122
Plant cover × year	358.537	2	4.34	0.0139
Plant cover[sites] _{random}	170.304	27	2.06	0.0020

$$F_{60,283} = 3.76, P < 0.0001; R^2 = 0.3254$$

MS, mean squares

F subscripts for the numerator and the denominator degrees of freedom

Mean ± SE values across all data

Plant cover and species composition

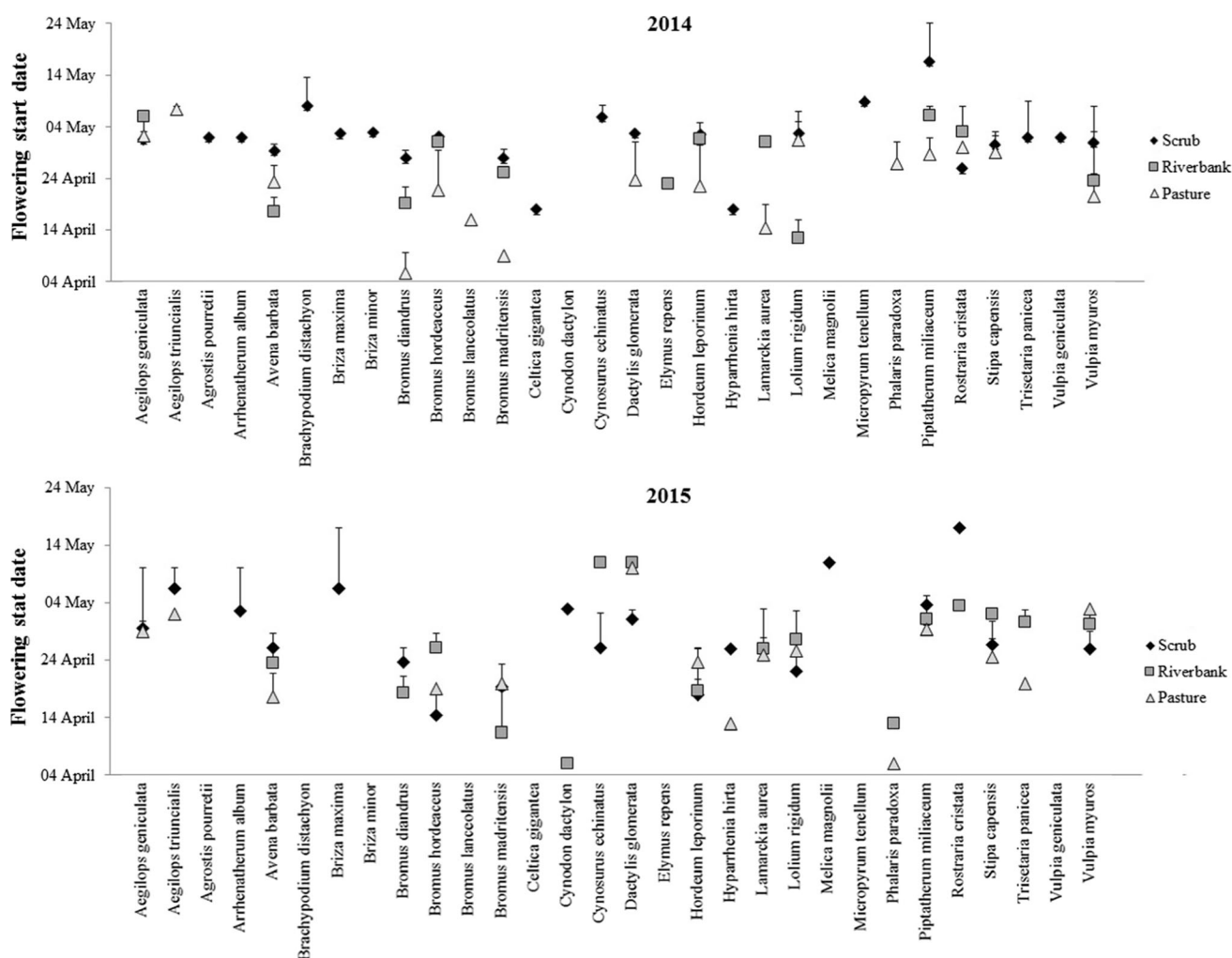
A total of ten pasture sample sites, ten scrub sample sites and nine riverbank sample sites were studied in 2014 and 2015 (Fig. 1). Scrub was the plant cover type comprising the largest

number of species (26), whereas riverbank and pastures contained the same number of species (18 in both). Binary discriminant analysis revealed significant differences in grass species composition between plant cover types. As a result, all but one (no. 28) of the sites could be unmistakably classified on the basis of its Poaceae community (Fig. 2).

Flowering start date

The GLMM analysis with all species revealed significant differences in the timing of flowering onset ($F_{60,283} = 3.76$, $P < 0.0001$; $R^2 = 0.3254$ for the whole model) (Table 1 and Fig. 3). Not all the species were found in both years, i.e., *C. dactylon* and *M. magnolia* were not reported in 2014 and *A. pourretii*, *B. distachyon*, *B. minor*, *B. lanceolatus*, *C. gigantea*, *E. repens*, *M. tenellum* and *V. geniculata* were not reported in 2015 and, therefore, were considered in the GLMM analysis as “missing values”.

Firstly, some species started to flower significantly earlier than others: *B. diandrus* (109 ± 1.9 days) was among the

**Fig. 3** Flowering start date in the different plant covers for the different grass species in both study years

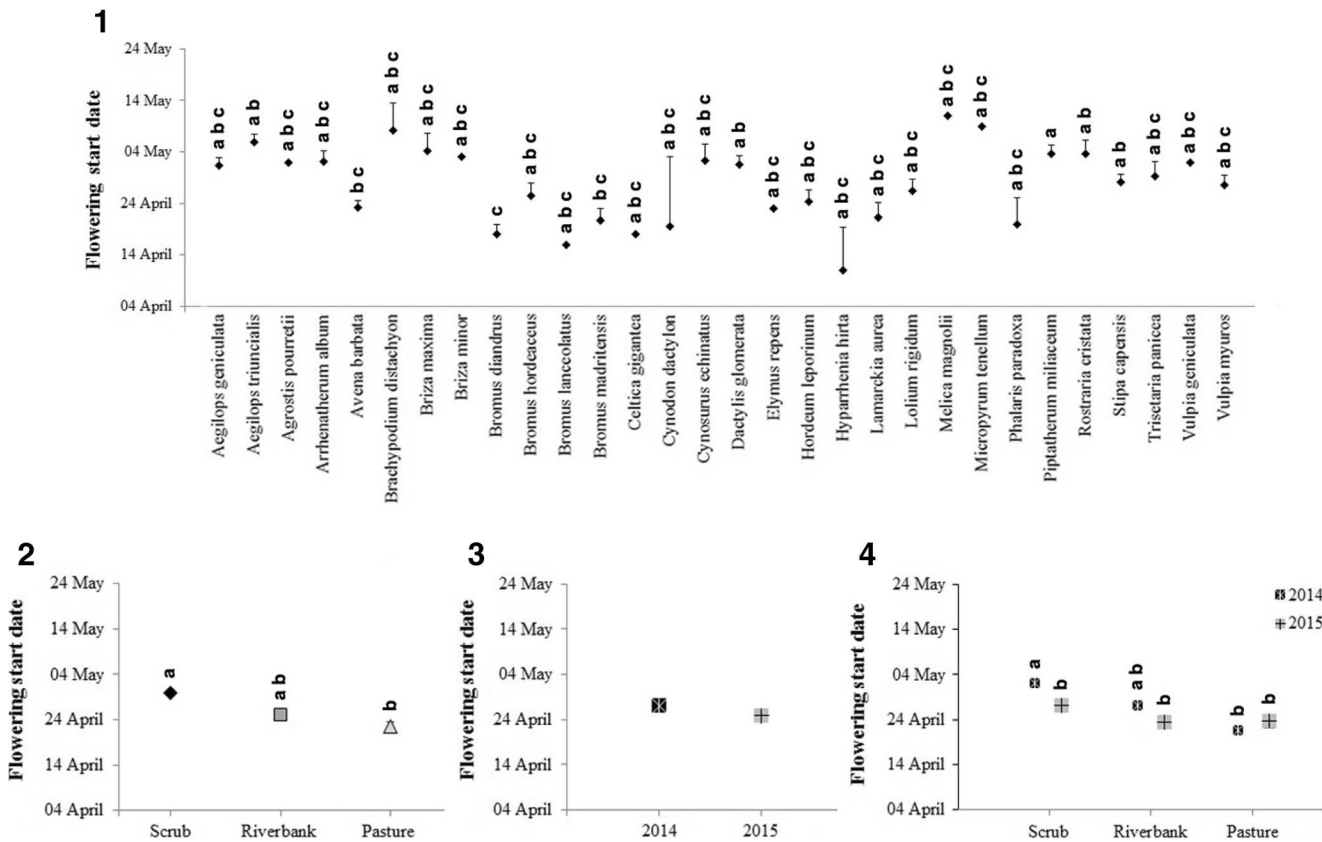


Fig. 4 Flowering start date in the different plant covers for the (1) different grass species, (2) plant covers, (3) study years and (4) plant cover \times year interaction; different letters in each graph, for significantly

different mean values, i.e., those values that share a letter are not significantly distinguishable ($q^* = 4.0$, $q^* = 2.6$, $q^* = 3.1$ for 1, 2 and 4, respectively; see text)

earliest species and another annual, *B. distachyon* (129.2 ± 5.3 days), among the latest. Secondly, significant differences were observed as a function of plant cover type: species in scrub cover were the last to flower (120.9 ± 0.7 days) and species in pasture cover were the first (113.4 ± 1.2 days). Thirdly, flowering onset generally started later in 2014 (118.2 ± 0.8 days) than in 2015 (115.8 ± 0.8 days). Fourthly, differences in the flowering start date between plant cover

types were recorded in 2014, but no clear difference was observed in 2015 (Fig. 4).

Mantel tests to detected spatial correlations for the flowering start date, i.e., phenological synchronization, yielded different results depending on plant cover type and year. Significant correlations were found for pasture only in 2015 (Spearman's $\rho = 0.353$, $P = 0.023$) and for riverbank only in 2014 (Spearman's $\rho = 0.552$, $P = 0.001$); no significant correlations were detected for scrub, which displayed a more consistent year-on-year pattern.

Flowering phenological length

The GLMM using all species revealed significant differences in flowering phenological length ($F_{60,283} = 2.5839$, $P < 0.0001$; $R^2 = 0.2170$) (Table 2 and Fig. 5). Again, absences were considered in the GLMM analysis as "missing values". Firstly, the flowering season in some species was significantly longer than in others; the season was shorter for the annual species *A. triuncialis* (8.0 ± 1.8 days) than for the perennial *H. hirta* (33.0 ± 8.3 days). Secondly, significant difference in phenological flowering length was not observed between plant cover types. Thirdly, significant difference was not observed between study years. Fourthly, in

Table 2 GLMM results for the analysis of the flowering phenological length of 30 Poaceae species in the three plant covers over two study years

Effect	MS	d.f.	F	P
Species	172.29	29	3.10	< 0.0001
Plant cover	127.62	2	1.35	0.2717
Year	0.41	1	0.01	0.9317
Plant cover \times year	41.15	2	0.74	0.4771
Site[plant cover] _{random}	103.81	26	1.87	0.0075

$F_{60,283} = 2.5839$, $P < 0.0001$; $R^2 = 0.2170$

MS, mean squares

F subscripts for the numerator and the denominator degrees of freedom

Mean \pm SE values across all data

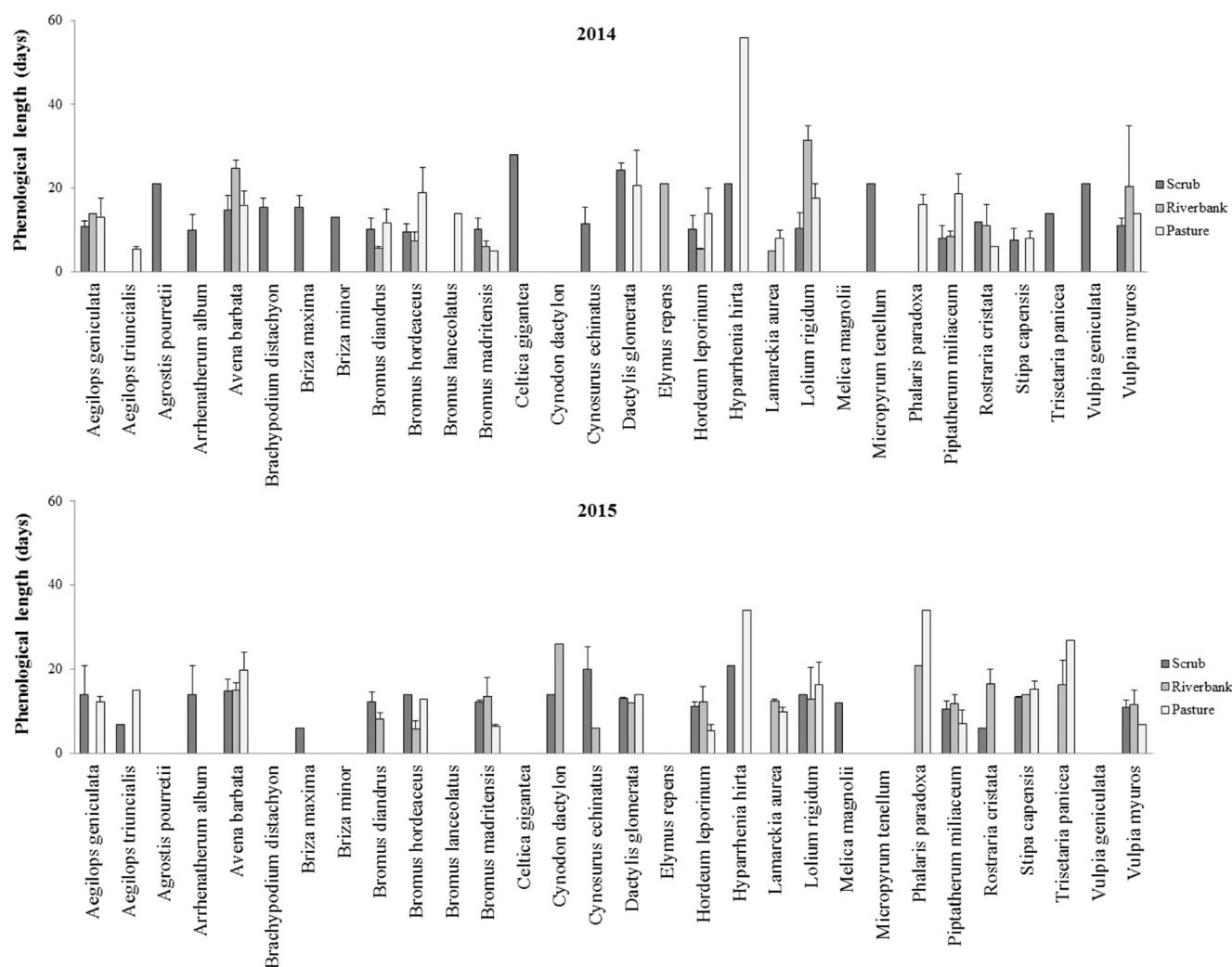


Fig. 5 Phenological length in different plant covers for the different grass species in both study years

contrast to the flowering start date, the plant cover \times year interaction result was not significant: phenological length was similar for all plant cover type and consistent in both years (Fig. 6).

GLMM analysis was repeated, including the start date as a covariate in order to determine whether there was an underlying common pattern linking the two variables. The overall result was significant ($F_{61,282} = 10.0405$, $P < 0.0001$; $R^2 = 0.6165$). Start date had a significant effect (slope = -0.5874 , $F_{1,282} = 295.8916$, $P < 0.0001$), i.e., the later the flowering start date, the shorter the flowering period. Moreover, the year effect then became significant ($F_{1,282} = 7.2276$, $P < 0.0076$). The significance of the other effects remained unaltered.

Discussion

Flowering phenology has been studied in numerous—mostly woody—plant species, but fewer papers have addressed herbaceous plants, and particularly in grasses (Frenguelli

et al. 2010; León-Ruiz et al. 2011, 2012; Cebrino et al. 2016; Kmenta et al. 2016; Ghitarrini et al. 2017). The present study sought to provide information on flowering phenological timing and spatial patterns in 30 Poaceae species growing in three different types of plant cover, over two study years with different weather.

Reproductive phenology is sensitive to environmental factors (Menzel et al. 2006; Gordo and Sanz 2010; Spano et al. 2013), such as temperature (especially in tree species) (García-Mozo et al. 2006; Galán et al. 2005) and rainfall (especially in herbaceous plants) (Alcázar et al. 2009), in southern Europe (Peñuelas et al. 2004; García-Mozo et al. 2009, 2010). Arturi et al. (2010) report that plant groups can be established by a combination of growth habit and phenology. The present study found significant inter-species differences in the flowering start date: *B. diandrus*, for example, flowered significantly earlier than *B. distachyon*, which was among the latest to flower. Significant inter-species differences were also observed for flowering-season length: the shortest season was recorded for *A. triuncialis* and

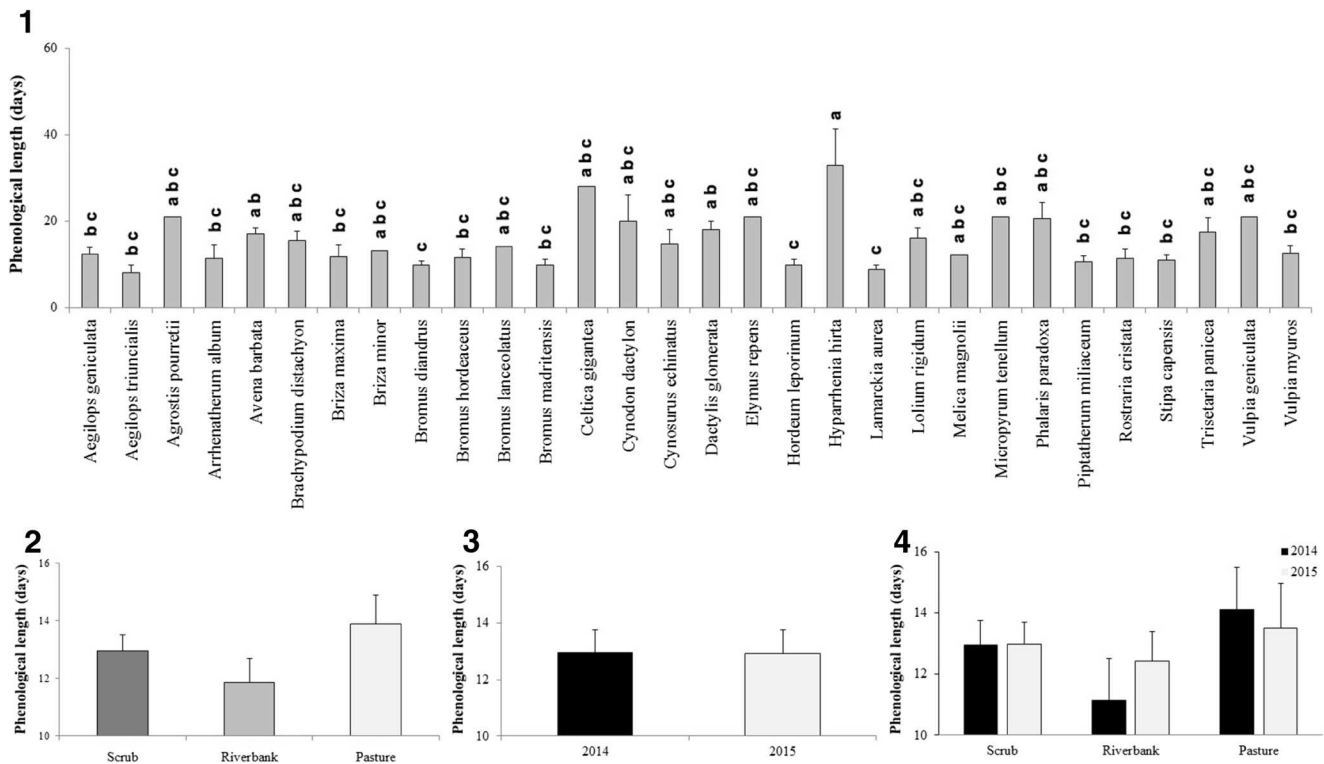


Fig. 6 Phenological length in different plant covers for the (1) different grass species, (2) plant covers, (3) study years and (4) plant cover × year interaction; different letters in each graph, for significantly different mean

values, i.e., those values that share a letter are not significantly distinguishable ($q^* = 4.0$ for the species comparison (1); see text)

the longest for *H. hirta*. Although Volaire and Norton (2006) noted that perennial grasses flower in late spring, followed by summer dormancy triggered by long and dry summer of Mediterranean climates, in this study, no significant differences in the start date were observed between annual and perennial species. Here, this constraint was observed in both annuals and perennials: species flowering in late spring had shorter seasons than earlier-flowering species, since those species are more exposed to the warmer temperatures and drought characteristic of the Mediterranean region during the summer.

Poaceae species are influenced by endogenous factors and exogenous perturbations during the growing season (White and Bernstein 2003), mainly temperature (García de León et al. 2015) but also rainfall and water availability. The average temperature of the pre-flowering and during the whole flowering season was similar in both years. Nevertheless, rainfall over the pre-flowering phase was higher in 2014 than in 2015. Our study evidences the important role of water availability during pre-flowering, confirming the crucial influence on grass development and emergence (Morellato et al. 2013; Plaza et al. 2016), especially in Mediterranean areas (Clary et al. 2004; García-Mozo et al. 2010). Results have shown significant differences in flowering onset among plant cover types in 2014, with sufficient water availability, but not in 2015 after a drier

and stressed period. On the other hand, flowering started later in 2014 than in 2015, probably due to precipitation occurring during March. During 2015, grasses that suffered a hdrought stress during winter started to flower just after mid-March rainfall.

Independently of the different responses to environmental factors, such as water availability or microenvironmental changes related to weather, the flowering timing also depends on altitude (León-Ruiz et al. 2011; Jochner et al. 2012). In this study, flowering occurred later in populations located in the scrub cover. These results have been also reported by other studies (Bliss 1962; Naveh and Whittaker 1980). On the other hand, higher spatial correlations for the flowering start date were found for riverbank in 2014 and pasture in 2015, but never for scrub, where species flower later than others and finish at similar dates, once they are more exposed to warmer temperature and drought as was mentioned before.

According to Herrera (1987), the great species diversity recorded in scrubland in southern Spain reflects the wide range of climates, soils and biological communities. In this study, the number of species growing in the scrubland was higher (26) than in the other plant cover types and the combination of species growing in pasture and riverbanks was the same number of species (18 in both). This may be due to, presumably, human activity, which is higher in the Mediterranean pastures and riverbanks (Blondel 2006).

This study provides information at species level and, especially, a space-dependent answer, which might prove valuable in the context of predicted climate change. The effects of temperature and rainfall on the Poaceae flowering process should, however, be interpreted with caution. Given the huge number of species belonging to this family, the phenological behaviour of grasses is difficult to determine. These results need to be borne out by further research on phenological changes in a range of species, focussing on both spatial and temporal aspects.

Conclusions

Differences in grass species composition were observed between plant cover types, scrub displaying greater species diversity than the other types. In general, some species flowered earlier in pasture and later in scrub. In addition, differences in the timing of flowering were found between some Poaceae species, but most species displayed constraints due to rising temperatures and drought during the late spring and summer. In conclusion, not only species-specific endogenous factors but environmental ones influence phenological-related variables, with spatial autocorrelation within some plant covers and showing spatial patterns at smaller scale.

Acknowledgements This study was partly supported by the project CGL2014-54731-R, “Study on phenological trends in plants of W Mediterranean and its relation to climate change (FENOMED)”, financed by the Ministerio de Ciencia e Innovación. The authors are also grateful to the Excellence Research Project “Analysis and Dynamic of Airborne Pollen in Andalusia (P10-RNM-5958)”, financed by the Junta de Andalucía, for funding this work.

Compliance with ethical standards This article does not contain any studies with human participants or animals performed by any of the authors.

References

- Aboulaich N, Bouziane H, Kadiri M, del Mar-Trigo M, Riadi H, Kazzaz M et al (2009) Pollen production in anemophilous species of the Poaceae family in Tetouan (NW Morocco). *Aerobiologia* 25(1): 27–38. <https://doi.org/10.1007/s10453-008-9106-2>
- Agencia de Meteorología de España (AEMET) (2011) Guía resumida del clima en España (1981–2010). Available: http://www.aemet.es/conocermas/publicaciones/detalles/guia_resumida_2010 Accessed Sept 2016
- Alcázar P, Stach A, Nowak M, Galán C (2009) Comparison of airborne herb pollen types in Córdoba (southwestern Spain) and Poznań (western Poland). *Aerobiologia* 25(2):55–63
- ArcGIS9 (2009) ArcGIS ArcView version 9.3. ESRI (Environmental Systems Research Institute Inc.), Redlands, p 1
- Arturi MF, Pérez CA, Robles ST, Plata L (2010) Plant traits and canopy types: seasonal and local variation in a grazed semi-deciduous temperate woodland. *Phytocoenologia* 40(4):245–253. <https://doi.org/10.1127/0340-269X/2010/0040-0438>
- Barbieri R, Botarelli L, Salsi A, Zinoni F (1989) Guida alle rilevazioni agrofenologiche ed alla compilazione delle schede di rilevamento per le colture erbacee ed arboree. E.R.S.A., Bologna
- Bliss LC (1962) Adaptations of arctic and alpine plants to environmental conditions. *Arctic* 15(2):117–144. [10.14430/arctic3564](https://doi.org/10.14430/arctic3564)
- Blondel J (2006) The ‘design’ of Mediterranean landscapes: a millennial story of humans and ecological systems during the historic period. *Hum Ecol* 34(5):713–729. <https://doi.org/10.1007/s10745-006-9030-4>
- Cebrino J, Galán C, Domínguez-Vilches E (2016) Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills. *Aerobiologia* 32(4):595–606. <https://doi.org/10.1007/s10453-016-9434-6>
- Cerling TE, Levin NE, Quade J, Wynn JG, Fox DL, Kingston JD et al (2010) Comment on the paleoenvironment of *Ardipithecus ramidus*. *Science* 328(5982):1105–1105. <https://doi.org/10.1126/science.1185274>
- Chapin FS, Randerson JT, McGuire AD, Foley JA, Field CB (2008) Changing feedbacks in the climate-biosphere system. *Front Ecol Environ* 6:313–320. <https://doi.org/10.1890/080005>
- Clary J, Savé R, Biel C, Herralde F (2004) Water relations in competitive interactions of Mediterranean grasses and shrubs. *An Appl Biol* 144(2):149–155. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00328.x>
- CMA (2007) Mapa de Usos y Coberturas Vegetales del suelo de Andalucía. Consejería Medio Ambiente, Junta de Andalucía, España
- Cook BI, Wolkovich EM, Parmesan C (2012) Divergent responses to spring and winter warming drive community level flowering trends. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(23):9000–9005. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118364109>
- Dai J, Wang H, Ge Q (2013) The spatial pattern of leaf phenology and its response to climate change in China. *Int J Biometeorol* 58:521–528. <https://doi.org/10.1007/s00484-013-0679-2>
- Devesa JA, Carrión JS (2012) Las plantas con flor: apuntes sobre su origen, clasificación y diversidad. Servicio de Publicaciones, Universidad de Córdoba, España
- Forrest J, Miller-Rushing AJ (2010) Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Phil Trans R Soc B: Biol Sci* 365(1555):3101–3112. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0145>
- Frenguelli G, Passalacqua G, Bonini S, Fiocchi A, Incorvaia C, Marcucci F et al (2010) Bridging allergologic and botanical knowledge in seasonal allergy: a role for phenology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 105(3):223–227. <https://doi.org/10.1016/j.anai.2010.06.016>
- Galán C, García-Mozo H, Vázquez L, Ruiz-Valenzuela L, Díaz de la Guardia C, Trigo-Pérez M (2005) Heat requirement for the onset of the *Olea Europaea* L. pollen season in several places of Andalusia region and the effect of the expected future climate change. *Int J Biometeorol* 49(3):184–188. <https://doi.org/10.1007/s00484-004-0223-5>
- Galán C, Alcázar P, Oteros J, García-Mozo H, Aira MJ, Belmonte J et al (2016) Airborne pollen trends in the Iberian Peninsula. *Sci Total Environ* 550:53–59. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.01.069>
- García de León D, García-Mozo H, Galán C, Alcázar P, Lima M, González-Andújar JL (2015) Disentangling the effects of feedback structure and climate on Poaceae annual airborne pollen fluctuations and the possible consequences of climate change. *Sci Total Environ* 530:103–109. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.104>
- García-Mozo H, Galán C, Jato V, Belmonte J, de la Guardia CD, Fernández D et al (2006) *Quercus* pollen season dynamics in the Iberian Peninsula: response to meteorological parameters and

- possible consequences of climate change. *Ann Agric Environ Med* 13(2):209
- García-Mozo H, Galán C, Belmonte J, Bermejo D, Candau P, Díaz de la Guardia C et al (2009) Predicting the start and peak dates of the Poaceae pollen season in Spain using process-based models. *Agric For Meteorol* 149:256–262. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2008.08.013>
- García-Mozo H, Mestre A, Galán C (2010) Phenological trends in southern Spain: a response to climate change. *Agric For Meteorol* 150(4): 575–580. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.01.023>
- Ghitarini S, Galán C, Frenguelli G, Tedeschini E (2017) Phenological analysis of grasses (Poaceae) as a support for the dissection of their pollen season in Perugia (Central Italy). *Aerobiologia* 33(3):339–349. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s10453-017-9473-7>
- Gibb S, Strimmer K (2015) Differential protein expression and peak selection in mass spectrometry data by binary discriminant analysis. <http://arxiv.org/abs/1502.07959>
- Gordo O, Sanz JJ (2005) Phenology and climate change: a long-term study in a Mediterranean locality. *Oecol* 146(3):484–495. <https://doi.org/10.1007/s00442-005-0240-z>
- Gordo O, Sanz JJ (2010) Impact of climate change on plant phenology in Mediterranean ecosystems. *Glob Chang Biol* 16(3):1082–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02084.x>
- Greenworks PC, West C, Engineers KC (2001) Willamette riverbank design notebook: Portland, Oregon. Bureau of Environmental Services - Portland Development Commission, USA
- Hartel T, Dorresteijn I, Klein C, Máthé O, Moga CI, Öllerer K et al (2013) Wood-pastures in a traditional rural region of Eastern Europe: characteristics, management and status. *Biol Conserv* 166:267–275. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.06.020>
- Herrera J (1987) Flower and fruit biology in southern Spanish Mediterranean shrublands. *Ann Missouri Bot Gard* 74:69–78. <https://doi.org/10.2307/2399263>
- Jochner S, Ziello C, Böck A, Estrella N, Buters J, Weichenmeier I et al (2012) Spatio-temporal investigation of flowering dates and pollen counts in the topographically complex Zugspitze area on the German–Austrian border. *Aerobiologia* 28(4):541–556. <https://doi.org/10.1007/s10453-012-9255-1>
- Kmenta M, Bastl K, Kramer MF, Hewings SJ, Mwange J, Zetter R et al (2016) The grass pollen season 2014 in Vienna: a pilot study combining phenology, aerobiology and symptom data. *Sci Total Environ* 566:1614–1620. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.059>
- Lee KW, Chen PW, SM Y (2014) Metabolic adaptation to sugar/O₂ deficiency for anaerobic germination and seedling growth in rice. *Plant Cell Environ* 37(10):2234–2244. <https://doi.org/10.1111/pce.12311>
- León-Ruiz E, Alcázar P, Domínguez-Vilches E, Galán C (2011) Study of Poaceae phenology in a Mediterranean climate. Which species contribute most to airborne pollen counts? *Aerobiologia* 21(1):37–50. <https://doi.org/10.1007/s10453-010-9174-y>
- León-Ruiz E, García-Mozo H, Domínguez-Vilches E, Galán C (2012) The use of geostatistics in the study of floral phenology of *Vulpia geniculata* (L) Link. *Sci World J* 2012(2012):624247. <https://doi.org/10.1100/2012/624247>
- Meier U (2001) Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH monograph. German Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Germany
- Menzel A, Sparks TH, Estrella N, Koch E, Aasa A, Ahas R et al (2006) European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob Chang Biol* 12(10):1969–1976. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2006.01193.x>
- Morellato LPC, Camargo MGG, Gressler E (2013) A review of plant phenology in south and central America. In: Schwartz MD (ed) *Phenology: an integrative environmental science*. Springer, Netherlands, pp 91–113
- Naveh Z, Whittaker RH (1980) Structural and floristic diversity of shrublands and woodlands in northern Israel and other Mediterranean areas. *Vegetatio* 41(3):171–190. <https://doi.org/10.1007/BF00052445>
- Peñuelas J, Filella I, Comas P (2002) Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Glob Chang Biol* 8(6):531–544. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2486.2002.00489.x>
- Peñuelas P, Filella I, Zhang X, Llorens L, Ogaya R, Lloret F et al (2004) Complex spatiotemporal phenological shifts as a response to rainfall changes. *New Phytol* 161:837–846. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01003.x>
- Phillips M, Allen E (2015) Changes in above- and below-ground phenological relations across type-converted invaded grasslands in southern California, proposal for Shipley-Skinner Reserve–Riverside County. University of California, USA
- Plaza MP, Alcázar P, Hernández-Ceballos MA, Galán C (2016) Mismatch in aeroallergens and airborne grass pollen concentrations. *Atmos Environ* 144:361–369. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2016.09.008>
- Prieto-Baena JC, Hidalgo PJ, Domínguez-Vilches E, Galán C (2003) Pollen production in the Poaceae family. *Grana* 42(3):153–159. <https://doi.org/10.1080/00173130310011810>
- QGIS Development Team (2014) QGIS geographic information system. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org>
- R Core Team (2013) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna <http://www.R-project.org/>
- Richardson AD, Keenan TF, Migliavacca M, Ryu Y, Sonnentag O, Toomey M (2013) Climate change, phenology, and phenological control of vegetation feedbacks to the climate system. *Agric For Meteorol* 169:156–173. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.09.012>
- Sánchez-Mesa JA, Smith M, Emberlin J, Allitt U, Caulton E, Galán C (2003) Characteristics of grass pollen seasons in areas of southern Spain and the United Kingdom. *Aerobiologia* 19(3–4):243–250. <https://doi.org/10.1023/B:AERO.0000006597.44452.a3>
- Sánchez-Mesa JA, Galán C, Hervás C (2005) The use of discriminant analysis and neural networks to forecast the severity of the Poaceae pollen season in a region with a typical Mediterranean climate. *Int J Biometeorol* 49(6):355–362. <https://doi.org/10.1007/s00484-005-0260-8>
- Schwartz MD (2013) Introduction. In: Schwartz MD (ed) *Phenology: an integrative environmental science*. Springer, Netherlands, pp 1–5
- Spano D, Snyder RL, Cesaraccio C (2013) Mediterranean phenology. In: Schwartz MD (ed) *Phenology: an integrative environmental science*. Springer, Netherlands, pp 173–196
- Tormo R, Silva I, Gonzalo A, Moreno A, Pérez R, Fernández S (2011) Phenological records as a complement to aerobiological data. *Int J Biometeorol* 55(1):51–65. <https://doi.org/10.1007/s00484-010-0308-2>
- Voltaire F, Norton M (2006) Summer dormancy in perennial temperate grasses. *Ann Bot* 98:927–933. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl195>
- Watson L, Dallwitz MJ (1992) The grass genera of the world. CAB International, Wallingford
- White JF, Bernstein DI (2003) Key pollen allergens in North America. *Ann Allergy Asthma Immunol* 9:425–435. [https://doi.org/10.1016/S1081-1206\(10\)61509-8](https://doi.org/10.1016/S1081-1206(10)61509-8)



7. CAPÍTULO III

***Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its
implications for pollen allergy***

Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy

J. Cebrino  · S. Portero de la Cruz · M. J. Barasona ·
P. Alcázar · C. Moreno · E. Domínguez-Vilches · C. Galán

Received: 14 June 2016 / Accepted: 15 December 2016
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2016

Abstract Pollen allergy is among the most widespread allergic disease in Andalusia. However, few studies have examined patient information in conjunction with data on airborne pollen concentrations. This paper sought to identify the airborne pollen types prevalent in Córdoba, to examine the relationship between airborne pollen and the occurrence of allergies, and to investigate the use of drugs to treat various symptoms displayed by pollen-allergy sufferers over the study period. A prospective longitudinal study was conducted in Córdoba City between February and June in 2014 and 2015, using an original specific questionnaire to collect socio-demographic, symptom and pollen-allergy data. Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap. Descriptive and inferential statistical analysis was applied. A total of 178 sensitive subjects were included in the study. The prevalence of allergy to olive, grass and plane-tree pollen was 70.73, 73.17 and

19.51%, respectively, in 2014, and 70.83, 70.83 and 21.12%, respectively, in 2015. In both years, rhinitis was the most common allergic symptom (93.90% in 2014, 87.75% in 2015) and a significant correlation between the occurrence of rhinitis and antihistamine consumption was found ($p < 0.05$ in 2014, $p < 0.001$ in 2015). The percentage of asthmatic subjects using an inhaler was significantly higher than those who did not use it (63.16% vs. 26.98%; $p < 0.01$). In conclusion, this paper supports previous studies showing that the most allergenic pollen types in spring were olive, grass and plane-tree pollen. In addition, we found that rhinitis was the main symptom and antihistamines the medication most widely used by the sensitized population in Córdoba.

Keywords Aerobiology · Pollen allergy · Seasonal symptoms · Allergology

J. Cebrino (✉) · P. Alcázar · E. Domínguez-Vilches ·
C. Galán
Department of Botany, Ecology and Plant Physiology,
University of Córdoba, Córdoba, Spain
e-mail: jcebrinocruz@gmail.com

S. Portero de la Cruz
Department of Nursing, University of Córdoba, Córdoba,
Spain

M. J. Barasona · C. Moreno
Allergy Unit, Reina Sofía University Hospital, Córdoba,
Spain

1 Introduction

The worldwide problem of pollen allergy has been increasing over recent years (D'Amato et al. 2007). In Europe, pollen-allergy sufferers reportedly account for between 5 and 30% of the population in industrialized countries (Asher et al. 2006). The most prevalent manifestation of allergy is respiratory allergic disease, a common designation for a set of related symptoms including rhinitis, conjunctivitis and asthma (Pawankar

et al. 2011). The prevalence and intensity of these symptoms may vary both, among individuals (Berger et al. 2013) and also as a function of pollen-season characteristics and the abundance of airborne allergens is associated with other environmental factors (D'Amato et al. 2007; Bousquet et al. 2012). Pollen-monitoring networks provide valuable information on daily pollen concentrations and symptom risk levels, thus enabling local allergy sufferers and physicians to be forewarned (Scheifinger et al. 2013). Patients are treated with drugs such as antihistamines, nasal corticosteroids in case of rhinoconjunctivitis, and bronchodilators and inhaled corticosteroids for asthma (Brozek et al. 2010; Burks et al. 2013).

Airborne pollen patterns in any geographical area are largely predetermined by local vegetation and climate (Jato et al. 2002; Gioulekas et al. 2004), and pollen concentrations are governed mainly by the abundance of local pollen sources (Galán et al. 2016). Certain wild plants have great allergenic potential. Grasses are the main cause of pollen allergy in Europe (D'Amato et al. 2007; Frati et al. 2010; Recio et al. 2010; Nadih et al. 2012); in Cordoba City (S Spain), 73% of pollen-allergy sufferers are sensitive to these pollen (Sánchez-Mesa et al. 2005). The production of olives (*Olea europaea* L.) is one of the major economic activities and also a leading cause of respiratory allergic disease in the Mediterranean basin; in Andalusia it is regarded as the main cause of allergy (Orlandi et al. 2005; Aguilera and Valenzuela 2012; Oteros et al. 2015). Plane-trees (*Platanus* sp.) are widely used for ornamental purposes in southern Europe; the most commonly grown species is *Platanus × hispanica* Miller ex Münchh (López Lillo et al. 2000). A number of authors have identified the plane-tree as a major cause of pollen allergy in various Spanish cities (Alcázar et al. 2004; Iglesias et al. 2007; Recio et al. 2009). The Urticaceae family is represented by *Urtica* and *Parietaria* whose pollen—among the most potentially allergenic in the Mediterranean region (D'Amato and Spieksma 1992; Trigo et al. 2008)—is common in Córdoba (Galán et al. 2000; Velasco-Jiménez et al. 2013).

A number of studies have focused on the relationship between airborne pollen concentrations and the allergic disease, reporting a positive correlation in Europe (Feo-Brito et al. 2011; Kmenta et al. 2014; Bastl et al. 2014, 2015). In Córdoba, some studies have highlighted the role of certain plant families in the development of

pollinosis: Domínguez-Vilches et al. (1995), for example, found a positive correlation between the increased optical density of airborne particles and the symptomatic response in patients; Cariñanos et al. (2002) concluded that privet pollen should be regarded as a potential causative agent of local allergy problems in areas where the shrub is widely grown and where there are certain aggravating urban factors; Alcázar et al. (2004) reported that symptoms in early spring are more intense and persistent in districts with a larger number of plane-trees; and Sánchez-Mesa et al. (2005) observed some differences in the symptoms in patients suffered by pollen-allergy patients in different areas of the city due to varying local emission of biological and non-biological particles.

Using the major pollen types identified by prior research in the city of Córdoba, and with a view to analyzing the effects of aeroallergens on the pollinosis, the objectives of this study were (1) to examine the relationship between airborne pollen and the problem of allergies and (2) to investigate the use of drugs to treat the various symptoms displayed by pollen-allergy sufferers over the study period.

2 Materials and methods

2.1 Study area

Data for this prospective longitudinal study were collected between February and June in 2014 and 2015 in the southern Spanish city of Córdoba (30S UTM X: 341642; UTM Y: 4192085), in the southwestern Iberian Peninsula. The city has 333,033 inhabitants (latest census, 2011); it lies at 123 meters above sea level and covers a surface area of 290.23 km². Córdoba has a Mediterranean climate with some continental features, characterized by cold temperate winters and hot dry summers. The mean annual temperature is 18.2 °C, and mean annual rainfall is 605 mm (30-year averages, 1981–2010, data from the Spanish Meteorological Agency, AEMET 2011). The natural flora is typical of the Mediterranean Basin, and the main agricultural crops are olive, cereals and sunflower. Cypress, privet, poplar, elm and plane-tree are widely grown as ornamentals urban green spaces. Grasses and some trees have been linked with pollen allergens and possible cross-reactions (<http://www.allergome.org/>).

2.2 Subject population

A total of 178 subjects (82 in 2014, 96 in 2015; 58.53% women in 2014 and 58.33% women in 2015) were included in the study. Mean age was 28.5 years (range 18–59). All subjects were sensitized to pollen; 70.40% were resident in Córdoba province and were studying or working at the Rabanales Campus, University of Córdoba.

The inclusion criteria were: (1) Subjects suffering from rhinitis, conjunctivitis or asthma during the spring pollen season (symptoms mainly between March and June). Common symptoms include wheezing, dyspnoea, congestion with phlegm, sore throat and persistent cough (Mohan et al. 2014); (2) resident for at least the last 2 years in Córdoba City; (3) aged over 18; (4) previous positive pollen allergy test performed by an allergy specialist. This method is reliable for diagnosis of IgE-mediated allergic disease in patients with rhinoconjunctivitis, asthma, urticaria, anaphylaxis, atopic eczema and suspected food and drug allergy. It is minimally invasive, inexpensive, and results are immediately available and reproducible (Heinzerling et al. 2013).

The exclusion criteria were: (1) gaps in 2-year data collection (2) nasal polyposis and sinusitis.

2.3 Symptoms and medication surveys

Data collection was carried out in the Rabanales Campus, University of Córdoba. The dossier designed for data collection included: (1) an informative letter which stressed that participation was voluntary and anonymous; (2) an explicit request for collaboration; (3) a signed and dated consent form in which the subject agreed to participate in the study; and (4) an original specific questionnaire used to collect socio-demographic, symptom and pollen-allergy data. The questionnaire was hand-delivered to subjects, and completed dossiers were returned directly to the researchers. The variables recorded were: gender, age, previous positive pollen allergy test (yes, no), pollen allergy (olive, grass, plane-tree, nettle/parietaria, others), symptom data (asthma, conjunctivitis, allergic rhinitis) and consumption of medication (eyedrops, nasal sprays, antihistamines, immunotherapy, inhalers). The category of “other” pollen types comprised those with a lower percentage of sensitization in patients, i.e., *Pinus*, *Asteraceae* and *Quercus*.

Most subjects voluntarily provided a phone number. Telephone interviews, carried out during workdays once a week, lasted an average of 2 min.

This study focused only on subjects sensitized to pollen. The range of potential symptoms included those prompted by various pollen types (grass, olive, plane-tree and Urticaceae pollen), since the majority of subjects were polysensitized.

All procedures involving human participants were conducted in accordance with the ethical standards of the institutional committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

2.4 Airborne pollen

Airborne pollen was collected using a Hirst-type volumetric spore trap based on the impact principle (Hirst 1952). The trap is located 22 m above ground level, in the Rabanales Campus, University of Córdoba.

Monitoring and data management were carried out in accordance with guidelines published in the Spanish Aerobiology Network (REA) Management and Quality Manual (Galán et al. 2007). Data were expressed as daily average of pollen grains/m³ of air.

Grass, olive, plane-tree and Urticaceae pollen were studied, since these are regarded as the main cause of pollinosis in Córdoba during the spring (Sánchez-Mesa et al. 2005).

2.5 Statistical analysis

Statistical analyses were carried out using G-STAT version 2.0 for Windows. Data on airborne pollen and the sensitive population were expressed as absolute frequencies, percentages and 95% confidence intervals. Chi-square test or Fisher's exact test were applied to study the association between symptoms and use of medication. *p* values of <0.05 were considered significant in all statistical tests.

3 Results

3.1 Airborne pollen and sensitive population

Over the study period, the major cause of allergy in the sensitized population was grass pollen, followed by olive pollen, plane-tree pollen and finally Urticaceae

pollen. A total of 73.17 and 70.83% of subjects manifested allergy symptoms in response grass pollen in both study years, respectively; 70.73 and 70.83% of the subjects showed symptoms in response to olive pollen, 19.51 and 21.12% to plane-tree pollen and 4.88 and 4.17% to Urticaceae pollen (Table 1). Data for symptoms in response to pollen by age group in 2014 and 2015 are shown in Table 2.

3.2 Subjects suffering symptoms and using medicaments

Rhinitis was the symptom most frequently reported by subjects (93.90% in 2014, 87.75% in 2015); asthma was the least frequent (35.36% in 2014, 18.75% in 2015). The occurrence of rhinitis, conjunctivitis and asthma was greater in 2014 than in 2015. Antihistamines were the most common medication for allergy (80.49% in 2014, 77.08% in 2015). Eyedrops were used to a lesser extent, by 25% of patients in 2015 and 19.51% in 2014 (Table 3).

3.3 Meteorological results

Over the study period, average temperatures from January to June were fairly similar in 2015 (15.69 °C)

and 2014 (15.28 °C). However, January–June rainfall was considerably higher in 2014 (319.4 mm) than in 2015 (158.9 mm).

3.4 Airborne pollen versus symptoms

Higher pollen concentrations were detected in 2014 (Annual Pollen Index-API 53,112 vs. 48,867 in 2015). Olive pollen counts were higher than those of other pollen types in both study years: API 39,035 in 2014 and 40,758 in 2015. Grass pollen concentrations were higher in 2014 (9342 API) than in 2015 (4300 API), plane-tree pollen concentrations were higher in 2014 (3629 API) than in 2015 (2934 API), and Urticaceae pollen concentrations were higher in 2014 (1106 API) than 2015 (875 API). In 2014, a significant positive correlation was found between all pollen types and occurrence of rhinitis and conjunctivitis, except between occurrence of conjunctivitis and plane-tree pollen. In 2015, a significant positive correlation was observed between grass pollen concentrations and the presence of all symptoms; a significant positive correlation was also noted between both plane-tree and olive pollen concentrations and the occurrence of asthma (Fig. 1; Table 4).

Table 1 Airborne pollen and sensitive population in Córdoba during 2014 and 2015

Variables	Year 2014			Year 2015		
	Frequency (<i>n</i> = 82)	Percentage	95% CI	Frequency (<i>n</i> = 96)	Percentage	95% CI
Grass						
Yes	60	73.17	62.24–82.36%	68	70.83	60.67–79.67%
No	22	26.83	17.64–37.76%	28	29.17	20.33–39.33%
Olive						
Yes	58	70.73	59.65–80.26%	68	70.83	60.67–79.67%
No	24	29.27	19.74–40.35%	28	29.17	20.33–39.33%
Plane-tree						
Yes	16	19.51	11.58–29.74%	21	21.12	14.08–31.47%
No	66	80.49	70.26–88.42%	75	78.12	68.53–85.92%
Urticaceae						
Yes	4	4.88	1.34–12.02%	4	4.17	1.15–10.33%
No	78	95.12	87.98–98.66%	92	95.83	89.67–98.85%
Others						
Yes	10	12.20	6.01–21.29%	16	16.67	9.84–25.65%
No	72	87.80	78.71–93.99%	80	83.33	74.35–90.16%

CI confidence interval

Table 2 Percentages of subjects with allergy to pollen types by age group

Age group	Percentages of subjects with allergy to pollen types
2014	
18–31	43.11%: olive and grass pollen; 24.14%: olive pollen; 13.62%: grass pollen; 13.62%: grass, olive and plane-tree pollen; 3.45%: grass and plane-tree pollen and 2.06%: other pollen type
32–45	50%: olive and grass pollen; 50%: olive, grass, plane-tree, Urticaceae and other pollen type
46–59	25%: olive and grass pollen; 25%: grass pollen; 12.50%: olive pollen; 6.25%: other pollen type; 6.25%: grass and other pollen type; 6.25%: olive, grass and other pollen type; 6.25%: olive, grass and plane-tree pollen; 6.25%: olive, grass, plane-tree and other pollen type and 6.25%: olive, grass, plane-tree, Urticaceae and other pollen type
2015	
18–31	38.89%: olive and grass pollen; 15.26%: olive pollen; 9.72%: olive, grass and plane-tree pollen; 8.34%: olive, grass and other pollen type; 8.33%: grass pollen; 5.56%: grass and plane-tree pollen; 4.17%: olive and other pollen type; 2.78%: olive and plane-tree pollen; 2.78%: olive, grass, plane-tree and other pollen type; 1.39%: other pollen type; 1.39%: grass and other pollen type and 1.39%: olive, grass, plane-tree, Urticaceae and other pollen type
32–45	42.86%: olive and grass pollen; 28.57%: olive pollen and 28.57%: olive, grass, plane-tree, Urticaceae and other pollen type
46–59	29.41%: olive and grass pollen; 23.53%: grass pollen; 11.76% olive pollen; 5.88%: other pollen type; 5.88%: grass and other pollen type; 5.88%: olive, grass and plane-tree; 5.88%: olive, grass and other pollen type; 5.88%: olive, grass, plane-tree and other pollen type and 5.88%: olive, grass, plane-tree, Urticaceae and other pollen type

Table 3 Percentage of subjects suffering symptoms and using medicaments in 2014 (82 subjects) and 2015 (96 subjects)

	2014	2015
Symptoms (%)		
Rhinitis	93.90	87.75
Conjunctivitis	65.85	62.50
Asthma	35.36	18.75
Medicaments (%)		
Antihistamines	80.49	77.08
Inhalers	23.17	15.62
Nasal spray	15.85	12.50
Eyedrops	19.51	25.00
Immunotherapy	6.09	6.25

3.5 Association between medication and symptoms

In 2014, the proportion of subjects with rhinitis using antihistamines (96.67%) was significantly higher than that of subjects not doing so (81.25%; ($p = 0.0486$). The proportion of asthmatic subjects using inhalers (63.16%) was also significantly higher than that of subjects not doing so (26.98%) ($p = 0.0038$).

In 2015, a significant correlation was observed between the occurrence of rhinitis and the use of antihistamines ($p = 0.0006$). Use of eyedrops

displayed a significant correlation with occurrence of rhinitis ($p = 0.0337$) and conjunctivitis ($p = 0.0149$). Moreover, the proportion of asthmatics using inhalers (66.67%) was significantly higher than that of asthmatics not doing so (9.88%; $p = 0.0007^{-2}$; Table 5).

4 Discussion

The period January–June was drier in 2015 than in 2014, and the highest pollen concentrations were detected during 2014. However, findings for these study years suggest that herbaceous plants, including most Poaceae species, display a more immediate response to weather conditions than woody species (Alcázar et al. 2009; Dahl et al. 2013). In this sense, the prevalence of grass and olive pollen allergy in subjects aged under 46 was lower in 2015 than in 2014. The results show that olive and grass pollen were the most troublesome for the sensitive population over the study period. In Córdoba, olive pollen concentrations were higher in both study years than those of other pollen types, confirming the findings for the spring pollen calendar reported by Martínez-Bracero et al. (2015). This may well be due to the extensive olive-groves in the Andalusia region. In other areas of southern Spain, such as Jaén, olive pollen causes clinical symptoms in 84% of pollen-allergy sufferers

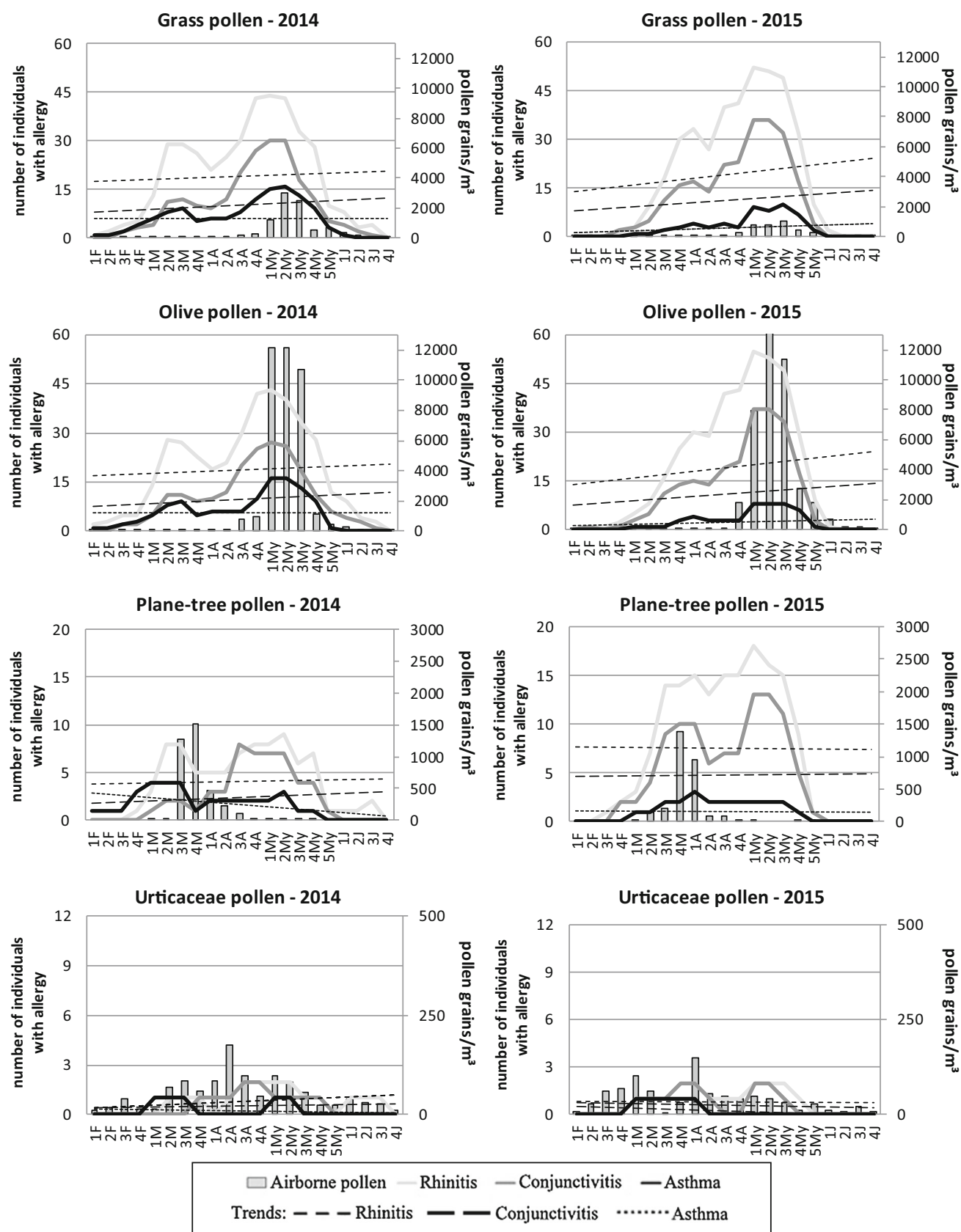


Fig. 1 Airborne pollen and symptoms (2014–2015)

Table 4 Correlation between airborne pollen of the different pollen types and allergic individuals

Variables	Year 2014						Year 2015					
	Subjects with rhinitis		Subjects with conjunctivitis		Subjects with asthma		Subjects with rhinitis		Subjects with conjunctivitis		Subjects with asthma	
	SCC	<i>p</i>	SCC	<i>p</i>	SCC	<i>p</i>	SCC	<i>p</i>	SCC	<i>p</i>	SCC	<i>p</i>
Grass	0.56	<0.01**	0.62	<0.01**	0.44	0.04*	0.72	<0.001***	0.68	<0.001***	0.72	<0.001***
Olea	0.64	<0.01**	0.66	<0.01**	0.48	0.03*	0.42	0.06	0.40	0.08	0.49	0.02*
Plane-tree	0.51	0.04*	0.47	0.06	0.24	0.37	0.32	0.23	0.34	0.20	0.59	0.02*
Urticaceae	0.67	<0.001***	0.64	<0.01**	0.30	0.19	0.38	0.09	0.38	0.09	−0.27	0.24

SCC Spearman correlation coefficient

* If trend at $\alpha = 0.05$ level of significance** If trend at $\alpha = 0.01$ level of significance*** If trend at $\alpha = 0.001$ level of significance

(Florido et al. 1999), while rates as high as 87% have been reported in Ciudad Real, in central Spain (Feo-Brito et al. 1998). High percentages were also recorded in the present study (70.73% in 2014, 70.83% in 2015). The onset of allergic symptoms (seasonal allergic rhinitis) in olive pollen-sensitive patients has been linked to airborne pollen concentrations above an extremely high daily average threshold of 400 pollen/m³ (Florido et al. 1999). In Córdoba, high daily olive pollen peaks were recorded in 2014 (3914 pollen grains/m³; May 6th) and in 2015 (3304 pollen grains/m³; May 13th). These daily peaks are classed as high by the REA (Galán et al. 2007) and, in this study, coincided with an increase in the number of subjects developing allergic rhinitis.

Pollen grains from grass species allergic responses in 35% of the European population (De Weger et al. 2013). In Spain, the average percentage of sensitivity to grass pollen varies depending on the region (Jato et al. 2009). In southern Spain, sensitization to grass pollen is found in up to 59% of the population with respiratory allergy (Pereira et al. 2006) and, together with olive pollen, grass pollen is regarded as the cause of pollen allergies in most sensitized subjects in Córdoba (Sánchez-Mesa et al. 2005). This finding is borne out by the results of the present study, which showed that 73.17% of subjects were allergic to grass pollen in 2014 and 70.83% in 2015. Findings also highlighted a significant correlation between grass pollen concentrations and the occurrence of rhinitis, conjunctivitis and asthma in both study years. Research suggests that grass pollen concentrations of

10–20 pollen/m³ are sufficient to trigger symptoms in sensitive individuals (Solomon and Mathews 1988; Subiza 2001).

In southern and central Europe, plane-tree pollen is among the main causes of pollinosis in urban areas, contributing to the development of asthma and rhinoconjunctivitis (Fernández-González et al. 2010; Damialis et al. 2011; Alcázar et al. 2011; Nowak et al. 2012; Asero et al. 2012; Ozturk et al. 2013). Plane-tree pollen is a greater contributor to asthma than other pollen types (Alcázar et al. 2004). Here, a positive correlation was noted between the occurrence of asthma and plane-tree pollen concentrations in 2015 ($r = 0.59$; $p = 0.02$). A total of 19.51 and 21.12% of subjects displayed allergy to plane-tree pollen in 2014 and 2015, respectively. Similar findings are reported by Alcázar et al. (2011) for cities in southwestern Spain. Córdoba is currently among the Spanish cities with the highest airborne plane-tree pollen concentration (Alcázar et al. 2015); here, counts were exceeded only by those of olive pollen.

As noted in other studies carried out in Spain (Belmonte et al. 1999; De Benito and Soto 2001), the Urticaceae pollen type had fewer allergic repercussions (4.88% of subjects were allergic in 2014 and 4.17% in 2015).

In general, treatment of allergic subjects is aimed at relief of symptoms (Small and Kim 2011). The first-line treatment of allergic rhinitis includes the avoidance of relevant allergens. Pollen exposure can be reduced by keeping windows closed, using an air conditioner, and limiting the amount of time spent

Table 5 Association between the use of medicaments and symptoms in subjects during 2014 and 2015

Variables	Rhinitis				<i>p</i>	Conjunctivitis				<i>p</i>	Asthma				<i>p</i>
	Yes		No			Yes		No			Yes		No		
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
2014															
Antihistamines															
Yes	64	96.67	2	3.03	0.04*	44	66.67	22	33.33	0.75	26	39.39	40	60.61	0.12
No	13	81.25	3	18.75		10	62.50	6	37.50		3	18.75	13	81.25	
Inhalers															
Yes	16	84.21	3	15.79	0.08	11	57.89	8	42.11	0.40	12	63.16	7	36.84	<0.01**
No	61	96.83	2	3.17		43	68.25	20	31.75		17	26.98	46	73.02	
Nasal spray															
Yes	13	100	0	0	1	8	61.54	5	38.46	0.76	5	38.46	8	61.54	1
No	64	92.75	5	7.25		46	66.67	23	33.33		24	34.78	45	65.22	
Eyedrops															
Yes	14	87.50	2	12.50	0.25	13	81.25	3	18.75	0.15	9	56.25	7	43.75	0.05
No	63	95.45	3	4.55		41	62.12	25	37.88		20	30.30	46	69.70	
Immunotherapy															
Yes	5	100	0	0	1	4	80	1	20	0.66	3	60	2	40	0.34
No	72	93.51	5	6.49		50	64.94	27	35.06		26	33.77	51	66.23	
2015															
Antihistamines															
Yes	70	94.59	4	5.41	<0.001*	50	67.57	24	32.43	0.06	16	21.62	58	78.38	0.23
No	14	63.64	8	36.36		10	45.45	12	54.55		2	9.09	20	90.91	
Inhalers															
Yes	11	73.33	4	26.67	0.09	8	53.33	7	46.67	0.42	10	66.67	5	33.33	0.0007 ^{-2*}
No	73	90.12	8	9.88		52	64.20	29	35.80		8	9.88	73	90.12	
Nasal spray															
Yes	12	100	0	0	0.35	9	75.00	3	25.00	0.53	2	16.67	10	83.33	1
No	72	87.71	12	14.29		51	60.71	33	39.29		16	19.05	68	80.95	
Eyedrops															
Yes	24	100	0	0	0.03*	20	83.33	4	16.67	0.02**	7	29.17	17	70.83	0.14
No	60	83.33	12	16.67		40	55.56	32	44.44		11	15.28	61	84.72	
Immunotherapy															
Yes	6	100	0	0	1	3	50	3	50.00	0.67	1	16.67	5	83.33	1
No	78	86.67	12	13.33		57	63.33	33	36.67		17	18.89	73	81.11	

* Significance using Fisher's exact test

** Significance using Chi-square test

outdoors during peak pollen seasons. However, exposure to pollen cannot be completely avoided (Small et al. 2007). In the present study, the proportion of subjects with rhinitis using antihistamines was significantly higher in both study years than that of those using other medication. Antihistamines and local

steroids are currently recommended for the treatment of allergic rhinitis (Tran et al. 2011).

Allergic rhinitis and asthma are physiologically, therapeutically and pathologically linked (Cauwenberge et al. 2007). In fact, allergic rhinitis usually precedes asthma and can be regarded as a risk factor

for the development of asthma (Leynaert et al. 2004). Here, the prevalence of asthma was lower than that of allergic rhinitis, a finding supported by Natt et al. (2011). In addition, some medicaments, such as inhaled corticosteroids, long-acting beta agonists and montelukast, are effective in controlling asthma symptoms and attacks (Yukselen and Gunuser 2014). In the present study, a significant correlation was found between the use of inhalers and the occurrence of asthma.

Finally, ocular allergy, which includes seasonal allergic conjunctivitis, is among the most common eye conditions encountered in clinical practice (Leonardi et al. 2007). Results showed that conjunctivitis was the second most frequent symptom displayed by allergic subjects. Since the eyes present a large surface area and it is often impossible to avoid ocular exposure to airborne allergens, the management of ocular allergy involves the use of anti-allergic therapeutic agents, multiple action anti-allergic agents and mast cell stabilizers (La Rosa et al. 2013). In the present study, a significant correlation was observed between the use of eyedrops and the occurrence of conjunctivitis. In fact, combination treatments using decongestants with antihistamines are very effective when administered as eyedrops (Abelson et al. 1990).

Further research over a longer period of time is required in order to study sensitization thresholds in the allergic population, with a view to avoiding both exposure to pollen and the indiscriminate use of medication by allergic subjects, thus improving their quality of life.

5 Conclusion

The findings of the present study generally bear out the results of previous research on the spring sensitized population in Córdoba in the course of the decade. However, there was a marked difference weather conditions in the two study years: The drier year (2015) was distinguished by lower exposure to pollen and fewer symptoms than in 2014. Rhinitis was the symptom most frequently suffered by the study subjects, and antihistamine was the most common medication for this allergic symptom. Usage of eyedrops was linked to the presence of rhinitis and conjunctivitis; inhalers were used to combat asthma symptoms. Research in this field is essential for a

better understanding of the implications of aeroallergens for pollinosis; however, further research is required with a view to avoiding both exposure to pollen and the indiscriminate use of medication by allergic subjects, thus improving their quality of life.

Acknowledgements The authors wish to thank the Ministerio de Economía y Competitividad I + D+I “RETOS INVESTIGACIÓN” for funding under project “Study on phenological trends in plants of Western Mediterranean and its relation to climate change (FENOMED) CGL2014-54731-R.” We are also grateful to project: P10-RNM-5958. Análisis de la dinámica del polen atmosférico en Andalucía (Research Project of Excellence, Andalusia Regional Government) for funding this work.

References

- Abelson, M. B., Paradis, A., George, M. A., Smith, L. M., Maguire, L., & Burns, R. (1990). Effects of Vasocon-A in the allergen challenge model of acute allergic conjunctivitis. *Archives of Ophthalmology*, 108(4), 520–524.
- Agencia de Meteorología de España (AEMET). (2011). Guía resumida del clima en España (1981–2010). http://www.aemet.es/es/conocermas/publicaciones/detalles/guia_resumida_2010. Accessed 16 Sept 2016.
- Aguilera, F., & Valenzuela, L. R. (2012). Altitudinal fluctuations in the olive pollen emission: an approximation from the olive groves of the south-east Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 28(3), 403–411.
- Alcázar, P., Cariñanos, P., De Castro, C., Guerra, F., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., et al. (2004). Airborne plane-tree (*Platanus hispanica*) pollen distribution in the city of Córdoba, South-western Spain, and possible implications on pollen allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 14(3), 238–243.
- Alcázar, T., Galán, C., Torres, C., & Domínguez, E. (2015). Detection of airborne allergen (Pla a 1) in relation to *Platanus* pollen in Córdoba (S Spain). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(1), 96–101.
- Alcázar, P., García-Mozo, H., Trigo, M. M., Ruiz, L., González-Minero, F. J., Hidalgo, P., et al. (2011). *Platanus* pollen season in Andalusia (southern Spain): Trends and modeling. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(9), 2502–2510.
- Alcázar, P., Stach, A., Nowak, M., & Galán, C. (2009). Comparison of airborne herb pollen types in Córdoba (South-western Spain) and Poznań (Western Poland). *Aerobiologia*, 25(2), 55–63.
- Asero, R., Mistrello, G., Amato, S., & Villalta, D. (2012). Monosensitization to a novel plane pollen allergen. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 44(4), 167–169.
- Asher, M. I., Montefort, S., Björkstén, B., Lai, C. K., Strachan, D. P., Weiland, S. K., et al. (2006). Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis, and eczema in childhood: ISAAC phases one and three repeat multicountry cross-sectional surveys. *The Lancet*, 368(9537), 733–743.

- Bastl, K., Kmenta, M., Geller-Bernstein, C., Berger, U., & Jäger, S. (2015). Can we improve pollen season definitions by using the symptom load index in addition to pollen counts? *Environmental Pollution*, 204, 109–116.
- Bastl, K., Kmenta, M., Jäger, S., Bergmann, K. C., & Berger, U. (2014). Development of a symptom load index: Enabling temporal and regional pollen season comparisons and pointing out the need for personalized pollen information. *Aerobiologia*, 30(3), 269–280.
- Belmonte, J., Canela, M., Guàrdia, R., Sbail, L., Vendrell, M., Alba, F., et al. (1999). Aerobiological dynamics of the urticaceae pollen in Spain, 1992–1998. *Polen*, 10, 79–91.
- Berger, U., Karatzas, K., Jaeger, S., Voukantsis, D., Sofiev, M., Brandt, O., et al. (2013). Personalized pollen-related symptom-forecast information services for allergic rhinitis patients in Europe. *Allergy*, 68(8), 963–965.
- Bousquet, J., Heinzerling, L., Bachert, C., Papadopoulos, N. G., Bousquet, P. J., Burney, P. G., et al. (2012). Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*, 67(1), 18–24.
- Brozek, J. L., Bousquet, J., Baena-Cagnani, C. E., Bonini, S., Canonica, G. W., Casale, T. B., et al. (2010). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(3), 466–476.
- Burks, A. W., Calderon, M. A., Casale, T., Cox, L., Demoly, P., Jutel, M., et al. (2013). Update on allergy immunotherapy: American Academy of Allergy, Asthma & Immunology/ European Academy of Allergy and Clinical Immunology/ PRACTALL consensus report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(5), 1288–1296.
- Cariñanos, P., Alcázar, P., Galán, C., & Domínguez, E. (2002). Privet pollen (*Ligustrum* sp.) as potential cause of pollinosis in the city of Cordoba, south-west Spain. *Allergy*, 57(2), 92–97.
- Cauwenberge, P., Watelet, J., Zele, T., Wang, D., Toskala, E., Durham, S. et al. (2007). Does rhinitis lead to Asthma? *Rhinology*, 45(2), 112–121.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62(9), 976–990.
- Dahl, Å., Galán, C., Hajkova, L., Pauling, A., Sikoparija, B., Smith, M., et al. (2013). The onset, course and intensity of the pollen season. In M. Sofiev & K. C. Bergmann (Eds.), *Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts* (pp. 29–70). Dordrecht: Springer.
- D'Amato, G., & Spiekma, F. T. M. (1992). European allergenic pollen types. *Aerobiologia*, 8(3), 447–450.
- Damialis, A., Fotiou, C., Halley, J. M., & Vokou, D. (2011). Effects of environmental factors on pollen production in anemophilous woody species. *Trees - Structure and Function*, 25(2), 253–264.
- De Benito, V., & Soto, J. (2001). Polinosis y aerobiología del polen en la atmósfera de Santander. *Alergología e inmunología clínica*, 16, 84–90.
- De Weger, L. A., Bergmann, K. C., Rantio-Lehtimäki, A., Dahl, A., Buters, J., Déchamp, C., et al. (2013). Impact of Pollen. In M. Sofiev & K. C. Bergmann (Eds.), *Allergenic pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts* (pp. 161–215). Dordrecht: Springer.
- Domínguez-Vilches, E., Cariñanos, P., Galán, C., Pasadas, F. G., García-Pantaleón, F. I., & de la Torre, F. V. (1995). Airborne pollen concentrations, solid particle content in the air and allergy symptoms in Córdoba (Spain). *Aerobiologia*, 11(2), 129–135.
- Feo-Brito, F., Galindo, P. A., García, R., Gómez, E., Fernández, F., Fernández-Pacheco, R., et al. (1998). Pólenes alergénicos en Ciudad Real: Aerobiología e incidencia clínica. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, 2, 79–85.
- Feo-Brito, F., Gimeno, P. M., Carnés, J., Martín, R., Fernández-Caldas, E., Lara, P., et al. (2011). Olea europaea pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 106(2), 146–152.
- Fernández-González, D., González-Parrado, Z., Vega-Maray, A. M., Valencia-Barrera, R. M., Camazón-Izquierdo, B., De Nuntiis, P., et al. (2010). Platanus pollen allergen, Pla a 1: Quantification in the atmosphere and influence on a sensitizing population. *Clinical and Experimental Allergy*, 40(11), 1701–1708.
- Florido, J. F., Delgado, P. G., de San Pedro, B. S., Quiralte, J., de Saavedra, J. M., Peralta, V., et al. (1999). High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. *International Archives of Allergy and Immunology*, 119(2), 133–137.
- Fрати, F., Scurati, S., Puccinelli, P., David, M., Hilaire, C., Capece, M., et al. (2010). Development of a sublingual allergy vaccine for grass pollinosis. *Journal of Drug Design, Development and Therapy*, 4, 99–105.
- Galán, C., Alcázar, P., Cariñanos, P., García, H., & Domínguez-Vilches, E. (2000). Meteorological factors affecting daily urticaceae pollen counts in southwest Spain. *International Journal of Biometeorology*, 43(4), 191–195.
- Galán, C., Alcázar, P., Oteros, J., García-Mozo, H., Aira, M. J., Belmonte, et al. (2016). Airborne pollen trends in the Iberian Peninsula. *Science of the Total Environment*, 550, 53–59.
- Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., & Domínguez-Vilches, E. (2007). *Spanish Aerobiology Network (REA): Management and quality manual*. Córdoba: Servicio de publicaciones, Universidad de Córdoba.
- Gioulekas, D., Papakosta, D., Damialis, A., Spiekma, F., Giouleka, P., & Patakas, D. (2004). Allergenic pollen records (15 years) and sensitization in patients with respiratory allergy in Thessaloniki, Greece. *Allergy*, 59(2), 174–184.
- Heinzerling, L., Mari, A., Bergmann, K. C., Bresciani, M., Burbach, G., Darsow, U., et al. (2013). The skin prick test: European standards. *Clinical and Translational Allergy*, 3(3), 1–10.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2), 257–265.
- Iglesias, I., Rodríguez-Rajo, F. J., & Méndez, J. (2007). Behavior of *Platanus hispanica* pollen, an important spring aeroallergen in northwestern Spain. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 17(3), 145.
- Jato, V., Dopazo, A., & Aira, M. J. (2002). Influence of precipitation and temperature on airborne pollen concentration in Santiago de Compostela (Spain). *Grana*, 41(4), 232–241.

- Jato, V., Rodríguez-Rajo, F. J., Seijo, M. C., & Aira, M. J. (2009). Poaceae pollen in Galicia (N.W. Spain): Characterisation and recent trends in atmospheric pollen season. *International Journal of Biometeorology*, 53(4), 333–344.
- Kmenta, M., Bastl, K., Jäger, S., & Berger, U. (2014). Development of personal pollen information—the next generation of pollen information and a step forward for hay fever sufferers. *International Journal of Biometeorology*, 58(8), 1721–1726.
- La Rosa, M., Lionetti, E., Reibaldi, M., Russo, A., Longo, A., Leonardi, S., et al. (2013). Allergic conjunctivitis: A comprehensive review of the literature. *Italian Journal of Pediatrics*, 39, 18.
- Leonardi, S., del Giudice Miraglia, M., La Rosa, M., & Bellanti, J. A. (2007). Atopic disease, immune system, and the environment. *Allergy and Asthma Proceedings*, 28(4), 410–417.
- Leynaert, B., Neukirch, C., Kony, S., Guenegou, A., Bousquet, J., Aubier, M., et al. (2004). Association between Asthma and rhinitis according to atopic sensitization in a population based study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(1), 86–93.
- López Lillo, A., Trigo Pérez, M. M., Argimón de Vilardaga, X., & Sánchez de Lorenzo, J. M. (2000). *Flora Ornamental Española I*. Junta de Andalucía: Consejería de Agricultura y Pesca.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Díaz de la Guardia, C., González-Minero, F. J., Trigo, M. M., & Galán, C. (2015). Pollen calendars: A guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia*, 31(4), 549–557.
- Mohan, A., Roberto, A. J., Whitehill, B. C., Mohan, A., & Kumar, A. (2014). Exploration of the genetic epidemiology of asthma: A review, with a focus on prevalence in children and adolescents in the Caribbean. *West Indian Medical Journal*, 63(7), 687–692.
- Nadih, M., Knežević, Z., Josipović, R., Grgić, I., & Cvitković, A. (2012). Pollen counts in Slavonski Brod, Croatia during the pollination period 2008 to 2010. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 63(1), 35–40.
- Natt, R. S., Karkos, P. D., Natt, D. K., Theochari, E. G., & Karkanavatos, A. (2011). Treatment trends in allergic rhinitis and asthma: a British ENT survey. *BMC Ear, Nose and Throat Disorders*, 11(1), 3.
- Nowak, M., Szymanska, A., & Grewling, L. (2012). Allergic risk zones of plane tree pollen (*Platanus* sp.) in Poznan. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 29(3), 156–160.
- Orlandi, F., Vazquez, L. M., Ruga, L., Bonofiglio, T., Fornaciari, M., Garcia-Mozo, H., et al. (2005). Bioclimatic requirements for olive flowering in two Mediterranean regions located at the same latitude (Andalucía, Spain, and Sicily, Italy). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 12(1), 47.
- Oteros, J., García-Mozo, H., & Galán, C. (2015). Google trends, una herramienta útil para detectar la presencia de polen atmosférico. *Anales de la Facultad de Medicina*, 76(3), 265–268.
- Ozturk, M., Guvensen, A., Gucel, S., & Altay, V. (2013). An overview of the atmospheric pollen in Turkey and the Northern Cyprus. *Pakistan Journal of Botany*, 45, 191–195.
- Pawankar, R., Canonica, G. W., Holgate, S. T., & Lockey, R. F. (2011). *WAO White book on allergy 2011–2012: Executive summary*. Milwaukee, WI: World Allergy Organization.
- Pereira, C., Valero, A., Loureiro, C., Davila, I., Martínez-Cocera, C., Murio, C., et al. (2006). Iberian study of aeroallergens sensitization in allergic rhinitis. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 38(6), 186–194.
- Recio, M., Docampo, S., García-Sánchez, J., Trigo, M. M., Melgar, M., & Cabezano, B. (2010). Influence of temperature, rainfall and wind trends on grass pollination in Malaga (western Mediterranean coast). *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(7), 931–940.
- Recio, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, M. V., Trigo, M. M., & Cabezano, B. (2009). The effect of recent climatic trends on Urticaceae pollination in two bioclimatically different areas in the Iberian Peninsula: Malaga and Vigo. *Climatic Change*, 97(1–2), 215–228.
- Sánchez-Mesa, J. A., Serrano, P., Cariñanos, P., Prieto-Baena, J. C., Moreno, C., Guerra, F., et al. (2005). Pollen allergy in Cordoba city: Frequency of sensitization and relation with antihistamine sales. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 15(1), 50–56.
- Scheifinger, H., Belmonte, J., Buters, J., Celenk, S., Damialis, A., Dechamp, Ch., et al. (2013). Monitoring, modeling and forecasting of the pollen season. In M. Sofiev & K-Ch. Bergmann (Eds.), *Allergenic Pollen: A review of the production, release, distribution and health impacts* (pp. 127–158). Dordrecht: Springer.
- Small, P., Frenkiel, S., Becker, A., Boisvert, P., Bouchard, J., Carr, S., et al. (2007). Rhinitis: A practical and comprehensive approach to assessment and therapy. *Journal of Otolaryngology*, 36(S1), S5–S27.
- Small, P., & Kim, H. (2011). Allergic rhinitis. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 7(S1), S3.
- Solomon, W. R., & Mathews, K. P. (1988). Aerobiology and inhalant allergens. In E. Middleton, C. E. Reed, E. F. Ellis, N. F. Adkinson, & J. W. Yunginger (Eds.), *Allergy principles and practice* (pp. 312–372). Frederick: Mosby Co.
- Subiza, J. (2001). How to interpret pollen counts. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16(2), 59–68.
- Tran, N. P., Vickery, J., & Blaiss, M. S. (2011). Management of rhinitis: Allergic and non-allergic. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 3(3), 148–156.
- Trigo, M. M., Fernandez-Gonzalez, D., Jato, V., & Galan, C. (2008). *Atlas aeropalínológico de España (Aeropalynological Atlas of Spain)*. Red Española de Aerobiología: Editorial de la Universidad de León.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2013). Comparative study of airborne pollen counts located in different areas of the city of Córdoba (SW). *Aerobiologia*, 29(1), 113–120.
- Yukselen, A., & Gunuser, S. (2014). Role of immunotherapy in the treatment of allergic asthma. *The World Journal of Clinical Cases*, 2(12), 859–865.



8. DISCUSIÓN

DISCUSIÓN

Uno de los objetivos de esta tesis doctoral ha sido el de evaluar el comportamiento fenológico de las especies de la familia Poaceae en diferentes coberturas vegetales (matorral, ribera y pastizal) en la ciudad de Córdoba y las colinas próximas de Sierra Morena durante la primavera. Cabe destacar que la mayoría de las investigaciones en fenología se han centrado en el norte y centro de Europa (Menzel *et al.* 2006; Cook *et al.* 2012), mientras que pocos trabajos han abordado la región mediterránea (Peñuelas *et al.* 2002; Gordo & Sanz 2005). Por otro lado, las observaciones fenológicas han sido estudiada en numerosas especies leñosas; empero pocos artículos han tratado la fenología en plantas herbáceas, aunque recientemente se ha observado un especial interés por las gramíneas (Frenguelli *et al.* 2010; Tormo *et al.* 2011; León-Ruiz *et al.* 2011, 2012; Kmenta *et al.* 2016; Ghitarrini *et al.* 2017; Romero-Morte *et al.* 2018). A pesar de la importancia ecológica de esta familia botánica y el considerable impacto del polen en la salud humana, se ha prestado menos atención al comportamiento fenológico de diferentes poblaciones de gramíneas que habitan en distintas coberturas vegetales. En esta tesis se ha presentado, además, un estudio para conocer la influencia de las diferentes especies de gramíneas, la cobertura vegetal donde habitan y el año de estudio en el inicio y duración de la floración. Un mejor conocimiento de la relevancia de estas variables, a tener en cuenta tanto por separado como interactuando, proporcionaría una información más precisa sobre cómo el ambiente puede afectar directamente a la fenología en la comunidad de gramíneas por medio de otros factores.

Resulta oportuno mencionar el estudio que se llevó a cabo desde el año 2004 al 2006 en Córdoba por León-Ruiz *et al.* (2011) sobre la fenología de diferentes especies de la familia Poaceae. De acuerdo con esta investigación, las fenofases más largas se registraron en el año más frío y húmedo, mientras que las fenofases más cortas en el año más cálido y seco. Estos hallazgos se confirman en el capítulo I de la presente tesis, con un periodo de estudio más prolongado (2000-2013), donde los años más húmedos se asociaron con largas fenofases y, por tanto, con una prolongada estación polínica. Por el contrario, se registraron fenofases y estaciones polínicas más cortas, con concentraciones anuales más bajas de polen durante los años más secos (2000, 2005, 2007 y 2012). En Badajoz, Tormo *et al.* (2011) observaron que especies como *Avena barbata* Pott ex Link, *Bromus diandrus* Roth, *B. hordeaceus* L. y *Hordeum leporinum* Link eran especies tempranas, mientras que *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum* y *Trisetaria panicea* eran

especies tardías, igual que lo comprobado en Córdoba y publicado en el capítulo I. No obstante, *Stipa capensis* Thunb. florecía principalmente en marzo y *Vulpia geniculata* principalmente a finales de abril y principios de mayo en Badajoz; al revés de lo observado en Córdoba.

Los cambios en el clima pueden tener diferentes efectos sobre los ecosistemas y las especies (Walther 2010). De acuerdo con Cook *et al.* (2012), se está observando un avance fenológico generalizado en diferentes especies vegetales de las regiones de latitudes templadas. En la región mediterránea, la temperatura y la precipitación son los factores clave para la fenología de la mayoría de las especies (Gordo & Sanz 2010). Asimismo, existen otros factores importantes, como la disponibilidad de agua, que influyen tanto en la fenología de las especies de gramíneas (Clary *et al.* 2004; García-Mozo 2017) como en los pastizales donde habitan (Dickinson & Dodd 1976). Además, diversas especies de gramíneas perennes difieren en gran medida entre sí, y con respecto a las especies anuales en su comportamiento fenológico, especialmente en sus periodos de máximo crecimiento y reproducción (Sarmiento 1983). El capítulo I se ha enfocado hacia el comportamiento fenológico de especies que florecen en primavera. A nivel de especies durante el periodo 2000 al 2013, se mostró un claro retraso fenológico -estadísticamente significativo- en el inicio de la floración (fase 1) de algunas especies como, por ejemplo, *Hordeum leporinum* y *Stipa capensis* en pastizal y *Bromus madritensis* L. tanto en pastizal como en ribera y matorral, o un avance fenológico en *Dactylis glomerata* y *Trisetaria panicea* en matorral durante los años de estudio.

En el capítulo II se observaron diferencias significativas entre especies que se encontraron ante distintas condiciones meteorológicas en 2014 (año más lluvioso) y 2015 (año más seco) con respecto a la fecha de inicio de la floración. Por ejemplo, *Hyparrhenia hirta* (L.) Stapf. y *Bromus diandrus* tuvieron una floración más temprana, mientras que *Brachypodium distachyon* (L.) Beauv. y *Piptatherum miliaceum* (L.) Coss. fueron dos de las más tardías; y con respecto a la duración fenológica, por ejemplo, *Aegilops triuncialis* L. tuvo una fenología más corta e *Hyparrhenia hirta* la más larga.

Hay que destacar que las mismas condiciones pueden influir de forma distinta en la fenología de diferentes especies debido a su respuesta al calentamiento global (Chuine *et al.* 2000; Grzegorz 2011). En este estudio se hallaron diferencias significativas en el inicio de la floración entre los tipos de cobertura en el año 2014, con suficiente disponibilidad

de agua por lluvias generadas durante el invierno; empero no en el año 2015, cuya primavera fue más seca. Asimismo, la floración comenzó más tarde en 2014 que en 2015, probablemente debido a la precipitación ocurrida durante el mes de marzo. En 2015, las gramíneas que pudieron sufrir estrés por la sequía durante el invierno comenzaron a florecer justo después de la lluvia a mediados de marzo. Varios estudios ponen en evidencia el papel tan importante que tiene la disponibilidad de agua durante la prefloración, confirmando así la crucial influencia en el desarrollo y emergencia de las gramíneas (Morellato *et al.* 2013; Plaza *et al.* 2016). Este dato es importante, ya que las tendencias de las últimas décadas están llevando hacia una mayor frecuencia de lluvia torrencial; un aumento de las precipitaciones no siempre va acompañado de disponibilidad de agua para la planta. Por otro lado, el periodo de la floración depende de la topografía y, en especial, la altitud (León-Ruiz *et al.* 2011; Jochner *et al.* 2012).

La riqueza florística que se encuentra en los matorrales del sur de España es fiel reflejo de la amplia gama de climas, suelos y comunidades biológicas. En el capítulo II, el número de especies de Poaceae ha sido más alto en matorral (26 especies) que en los otros tipos de cobertura vegetal, siendo, sin embargo, el mismo en pastizales y ribera (18 especies en ambos). Este hecho se puede deber a la actividad humana, siendo presumiblemente, más alta en ribera y pastizal (Blondel 2006).

En cuanto a la estación polínica, en general, suele haber coincidencia con la floración de plantas anemófilas, aunque puede estar condicionada por factores meteorológicos y por la ubicación del captador de polen (Kasprzyk 2009; Kasprzyk & Walanus 2010). En el sur de España, estudios previos han mostrado un avance tanto en el inicio de la estación polínica como en el día pico de polen de gramíneas, además de un incremento en el índice anual de polen (García-Mozo *et al.* 2009). Sin embargo, según los resultados de este estudio realizado durante los 2000-2013, se ha mostrado un retraso –estadísticamente no significativo– tanto en el inicio de la estación polínica como en el día pico de polen en la curva. La estación polínica empezó alrededor de la segunda quincena de abril y terminó aproximadamente en la segunda quincena de junio. La estación polínica más larga se observó en un año lluvioso (2011), mientras que la más corta se observó en el año más seco del período de estudio (2012). Con respecto al pico de polen de gramíneas en primavera, este puede alcanzar los 800 granos de polen/m³ de aire y el total de polen anual puede superar los 9500 granos de polen/m³ de aire en Córdoba (Fernández-González *et al.* 1999). En este estudio, el pico de polen más alto (1158 granos de polen/m³ de aire) se

registró durante el año más lluvioso (2013) a mediados del mes de mayo, como se observó en años anteriores (García-Mozo *et al.* 2009). En virtud de algunos estudios, la influencia de la precipitación es crucial en la intensidad de la estación polínica de las gramíneas (Smith & Emberlin 2006; Sánchez-Mesa *et al.* 2005), ya que limita el contenido de polen en el aire realizando un lavado atmosférico. Según Frenguelli *et al.* (2014), la floración de las gramíneas en Perugia (Italia) es más intensa si ocurre la precipitación antes de las cuatro semanas del inicio de la floración. Asimismo, en este estudio, la lluvia en el mes de junio prolonga la floración y, como resultado, las concentraciones de polen en el aire de la ciudad italiana fueron tres veces mayor que los años más secos en dicho mes.

Por otro lado, *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Vulpia geniculata*, junto con *Arrhenatherum album*, son las especies que, durante el periodo de estudio, más contribuyeron a la curva polínica en Córdoba, coincidiendo con los resultados de León-Ruiz *et al.* (2011). Algunas de estas han sido citadas en otras publicaciones para estudios realizados en otras localidades, como es el caso de Toledo, donde se cita a *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Arrhenatherum album* (Romero-Morte *et al.* 2018); *Dactylis glomerata*, *Lolium* spp. y *Poa* spp. en Perugia (Italia) (Frenguelli *et al.* 2010; Ghitarrini *et al.* 2017); y *Arrhenatherum elatius*, *Dactylis glomerata*, *Festuca* spp. y *Poa pratensis* en Viena (Austria) (Kmenta *et al.* 2016, 2017).

Por último, en el capítulo III se ha estudiado la relación entre la cantidad de polen en el aire y los síntomas de alergias al polen, además de evaluar el uso de fármacos para su tratamiento. Conviene señalar que la alergia al polen es la enfermedad respiratoria estacional más común en Europa (D'Amato 2007), siendo el polen de gramíneas la principal causa de polinosis (D'Amato *et al.* 2007) con el 35% de la población sensible (De Weger *et al.* 2013). El conjunto de síntomas que se relaciona con la polinosis incluye rinitis, conjuntivitis y asma (Pawankar *et al.* 2011). En España, la alergia al polen varía según el área, donde el 59% de la población que vive en el sur sufre rinitis por el polen de gramíneas (Pereira *et al.* 2006), aunque el polen de olivo sea la principal causa de sensibilización alérgica (Barber *et al.* 2008). En Córdoba, estudios previos mostraron que el 73% de los pacientes son alérgicos al polen de gramíneas mientras que alrededor del 80% de los pacientes son alérgicos al polen de olivo (Sánchez-Mesa *et al.* 2005).

De igual manera, se presentaron altos porcentajes de sujetos alérgicos al polen de gramíneas durante el periodo de estudio (73,17% en 2014 y 70,83% en 2015), siendo más alto en el año 2014. Durante este periodo, se registraron en los días pico 1180 granos de polen/m³ en 2014 y 348 granos de polen/m³ en 2015. Si se atiende a estudios previos, se han llegado a detectar 800 granos de polen/m³ en Córdoba durante el pico de la estación polínica en el año 2007 (Velasco-Jiménez *et al.* 2013), como ocurrió en 2014. Algunos estudios sugieren que no se precisan altas concentraciones de granos de polen/m³ de aire (30 a 50 granos de polen/m³) para producir síntomas alérgicos (Subiza 2001; Cirera *et al.* 2012). Sin embargo, en Córdoba, estas cifras ponen en evidencia el inicio en la detección de problemas de alergia, con mayores situaciones de riesgo a concentraciones superiores de 50 granos de polen/m³ (Galán *et al.* 2007).

Aunque este estudio se ha enfocado en las gramíneas, se ha pretendido estudiar otros tipos polínicos para conocer el lugar que ocupa el polen de gramíneas para los profesionales sanitarios y pacientes con alergia al polen. En este sentido, con respecto al olivo, se obtuvieron porcentajes ligeramente inferiores de sujetos alérgicos al polen durante el periodo de estudio (70,73% en 2014 y 70,83% en 2015), aunque superiores a otros tipos polínicos. Esto se debe a que el polen de olivo es el más abundante de la ciudad de Córdoba, representando casi un 40% del total de la concentración polínica en el aire de la ciudad y llegándose a detectar, en ocasiones, valores de hasta 30000 granos de polen al año, como ocurrió en el año 2009 (Velasco-Jiménez *et al.* 2013). Durante este periodo de estudio, se llegaron a registrar días pico con 3914 granos de polen/m³ en 2014 y 3304 granos de polen/m³ en 2015, valores superiores al rango del umbral propuesto por Galán *et al.* (2007) de 50-200 granos de polen/m³.

Con respecto al plátano de sombra, este árbol se encuentra entre las principales causas de polinosis en las áreas urbanas, contribuyendo al desarrollo de alergias durante la primavera temprana (Fernández-González *et al.* 2010; Alcázar *et al.* 2011; Damialis *et al.* 2011; Asero *et al.* 2012; Nowak *et al.* 2012; Ozturk *et al.* 2013). Con este estudio un total de 19,51% en 2014 y 21,12% en 2015 de los sujetos mostraron alergia al polen de plátano de sombra; resultado algo más bajo (17%) de lo que reportaron Alcázar *et al.* (2004) en Córdoba. En particular, Córdoba se encuentra actualmente entre las ciudades españolas con la mayor concentración de granos de polen en el aire de plátano de sombra (Alcázar *et al.* 2015); en este estudio, se llegaron a registrar hasta 448 granos de polen/m³

en 2014 y 393 granos de polen/m³ en 2015 en el día pico, valores superiores al rango del umbral propuesto por Galán *et al.* (2007) de 50-200 granos de polen/m³.

Por último, el polen de Urticaceae tuvo menos repercusiones alérgicas en el estudio (4,88% de los sujetos fueron alérgicos en 2014 y 4,17% en 2015), porcentajes similares a los observados en otros estudios realizados en España (Belmonte *et al.* 1999; De Benito-Rica & Soto-Torres 2001).

Con respecto al uso de fármacos, la proporción de sujetos con rinitis que usan antihistamínicos fue significativamente mayor que en aquellos que usaron otros fármacos en ambos años de estudio. Los antihistamínicos y los corticoides locales se recomiendan actualmente para el tratamiento de la rinitis alérgica (Tran *et al.* 2011). Asimismo, como era de esperar, en referencia a la conjuntivitis alérgica, los resultados de este capítulo la presentaron como el segundo síntoma más frecuente, ya que se trata de una de las afecciones oculares más comunes que se encuentran en la práctica clínica (Leonardi *et al.* 2007). En el presente estudio se observó una correlación significativa entre el uso de colirios y la aparición de conjuntivitis. De hecho, los tratamientos combinados que usan descongestionantes con antihistamínicos son muy efectivos cuando se administran como colirios (Abelson *et al.* 1990). Por su parte, los síntomas de asma fueron menores que la rinitis alérgica. Además, algunos fármacos, como los corticosteroides, son eficaces para controlar los síntomas y ataques de asma (Yukselen & Kendirli 2014). En el presente estudio se encontró una correlación significativa entre el uso de inhaladores y la aparición de asma.



9. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Con esta tesis se ha llevado a cabo el seguimiento de distintas especies de gramíneas, sin embargo, solo algunas de ellas han mostrado diferentes tendencias fenológicas en las distintas coberturas vegetales que habitan durante los años de estudio. Por otro lado, solo algunas especies contribuyen a la curva polínica, siendo estas especies las principales responsables de los síntomas de polinosis en Córdoba. A la luz de los estudios publicados, se han obtenido las siguientes conclusiones específicas:

Capítulo I

Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills.

- I. Aunque la mayoría de las especies presentaron una fenología similar bajo diferentes condiciones climáticas y distintos tipos de cobertura vegetal, algunas de ellas han mostrado diferentes tendencias, con un claro retraso fenológico en *Hordeum leporinum* y *Stipa capensis* en pastizal y *Bromus madritensis*, tanto en pastizal como en ribera y matorral durante los años de estudio; y un adelanto en *Dactylis glomerata* y *Trisetaria panicea* de matorral.
- II. Se ha puesto de manifiesto la importancia del papel de la lluvia previa a la floración sobre la intensidad de la estación polínica. Sin embargo, la precipitación durante el periodo de floración limita el contenido de polen en el aire realizando un lavado atmosférico.
- III. *Arrhenatherum álbum*, *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* y *Vulpia geniculata* son las especies que más contribuyen a la curva polínica en Córdoba.

Capítulo II

Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain.

- I. Se observan diferencias en la composición de las especies de gramíneas entre las distintas coberturas vegetales, siendo el matorral el que cuenta con una mayor diversidad de especies en comparación con el pastizal y la ribera.

- II. Durante los dos años de estudio, *Hyparrhenia hirta* y *Bromus diandrus* fueron dos de las primeras especies en florecer; *Brachypodium distachyon* y *Piptatherum miliaceum* dos de las más tardías.
- III. A nivel de cobertura, las especies que habitan en pastizales tuvieron un inicio de floración más temprano y las que habitan en riberas y matorrales un inicio más tardío durante estos dos años. Además, la floración se inició más tarde en 2014, después de las lluvias acaecidas durante la fase de prefloración, que en 2015, este último caracterizado por contar con un invierno y una primavera temprana más secos.
- IV. Existen diferencias significativas en cuanto a la duración de la floración de algunas especies, como, por ejemplo, *Aegilops triuncialis* e *Hyparrhenia hirta* con la duración más corta y más larga, respectivamente.

Capítulo III

Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy.

- I. Los hallazgos de este estudio están en la línea con los obtenidos en investigaciones previas sobre la población alérgica al polen en Córdoba, con la salvedad de que hubo una marcada diferencia en las condiciones meteorológicas durante los dos años de estudio: el año más seco (2015) se distinguió por una menor exposición al polen y menos síntomas alérgicos que en el año más lluvioso (2014), poniendo en evidencia el papel que juegan los distintos parámetros meteorológicos en la fenología de la floración y en los síntomas de polinosis.
- II. Un alto porcentaje de sujetos sufren polinosis, en especial al polen de gramíneas y olivo, siendo la rinitis alérgica el síntoma más frecuente en primavera; los antihistamínicos son los fármacos más usados para aliviar este síntoma.

CONCLUSIONS

This thesis has been focused on different grass species, but only some of them have shown different phenological trends in different plant covers during the study years. On the other hand, only some species more contribute to the pollen curve, being these species the principal responsible of pollinosis in Córdoba. The following specific conclusions have been obtained in the three papers:

Chapter I

Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills.

- I. Although most species displayed a similar phenology under different climatic conditions and different plant covers, different trends have been observed with a clear phenological delay on *Hordeum leporinum* and *Stipa capensis* in pasture and *Bromus madritensis* in pasture, riverbank and scrub over the study years; and a clear advance on *Dactylis glomerata* and *Trisetaria panicea* in scrub.
- II. The important role of rainfall prior to flowering on pollen season intensity has been highlighted. Nevertheless, precipitation during flowering period produce washing out in the atmosphere.
- III. *Arrhenatherum album*, *Dactylis glomerata*, *Lolium rigidum*, *Trisetaria panicea* and *Vulpia geniculata* are contributors to the pollen curve in Córdoba.

Chapter II

Spatio-temporal flowering patterns in Mediterranean Poaceae. A community study in SW Spain.

- I. There are differences in grass community composition as a function of plant cover; scrub comprises a considerably larger number of species than those in riverbank and pasture.
- II. *Hyparrhenia hirta* and *Bromus diandrus* were two of the first flowering species; *Brachypodium distachyon* and *Piptatherum miliaceum* two of the last ones during the two years.
- III. Regarding plant covers, species in pasture flowered before than species in riverbank and scrub over two study years. Moreover, flowering onset occurred

later in 2014, after precipitation during the pre-flowering period, than in 2015, characterized by drier winter and early spring.

- IV. There are significant differences in flowering length of some species, i.e. *Aegilops triuncialis* and *Hyparrhenia hirta*, with the shortest and the longest length, respectively.

Chapter III

Airborne pollen in Córdoba City (Spain) and its implications for pollen allergy.

- I. This study support previous results on the allergic population in Córdoba, however this time with marked differences on weather conditions during the two years: the drier year (2015) was lower exposition to pollen and fewer allergic symptoms than during the rainiest year (2014), revealing the role of different meteorological parameters on flowering phenology and in pollinosis symptoms.
- II. A high percentage of subjects suffer pollinosis, especially to grass and olive pollen, being rhinitis the main symptom in spring and antihistamines most widely drugs used for relieving this symptom.



10. BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aalberse, R. C. (2000). Structural biology of allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(2), 228-238.
- Abelson, M. B., Paradis, A., George, M. A., Smith, L. M., Maguire, L., Burns, R. (1990). Effects of Vasocon-A in the allergen challenge model of acute allergic conjunctivitis. *Archives of Ophthalmology*, 108(4), 520-524.
- Aboulaich, N., Bouziane, H., Kadiri, M., Trigo, M. M., Riadi, H., Kazzaz, M., Merzouki, A. (2009). Pollen production in anemophilous species of the Poaceae family in Tetouan (NW Morocco). *Aerobiologia*, 25(1), 27-38.
- Abreu, I., Ribeiro, H. (2005). Allergenic pollen in the city of Porto (Portugal). *Allergy*, 60(11), 1452-1453.
- Abu-Asab, M. S., Peterson, P. M., Shetler, S. G., Orli, S. S. (2001). Earlier plant flowering in spring as a response to global warming in the Washington, DC, area. *Biodiversity & Conservation*, 10(4), 597-612.
- Adams, D. E., Perkins, W. E., Estes, J. R. (1981). Pollination systems in *Paspalum dilatatum* Poir. (Poaceae): an example of insect pollination in a temperate grass. *American Journal of Botany*, 68(3), 389-394.
- Aerts, R., Cornelissen, J. H. C., Dorrepaal, E. (2006). Plant performance in a warmer world: General responses of plants from cold, northern biomes and the importance of winter and spring events. *Plant Ecology*, 182(1-2), 65-77.
- Agencia Estatal de Meteorología (AEMET). (2011). Guía resumida del clima en España (1981–2010). [Internet]
http://www.aemet.es/es/conocermas/recursos_en_linea/publicaciones_y_estudios/publicaciones/detalles/guia_resumida_2010 (acceso el 11 de junio de 2017).
- Ahas, R., Aasa, A., Menzel, A., Fedotova, V. G., Scheifinger, H. (2002). Changes in European spring phenology. *International Journal of Climatology*, 22(14), 1727-1738.
- Alba-Sánchez, F., Sabariego-Ruiz, S., Díaz de la Guardia, C., Nieto-Lugilde, D., De Linares, C. (2010). Aerobiological behaviour of six anemophilous taxa in semi-arid environments of southern Europe (Almería, SE Spain). *Journal of Arid Environments*, 74(11), 1381-1391.
- Alcázar, P., Cariñanos, P., De Castro, C., Guerra, F., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2004). Airborne plane-tree (*Platanus hispanica*) pollen distribution in the city of Córdoba, South-western Spain, and possible implications on pollen allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 14(3), 238-243.
- Alcázar, P., Stach, A., Nowak, M., Galán, C. (2009). Comparison of airborne herb pollen types in Córdoba (southwestern Spain) and Poznan (western Poland). *Aerobiologia*, 25(2), 55-63.
- Alcázar, P., García-Mozo, H., Trigo, M. M., Ruiz-Valenzuela, L., González-Minero, F. J., Hidalgo, P., Díaz de la Guardia, C., Galán, C. (2011). *Platanus* pollen season in

Andalusia (southern Spain): trends and modeling. *Journal of Environmental Monitoring*, 13(9), 2502-2510.

Alcázar, P., Galán, C., Torres, C., Domínguez-Vilches, E. (2015). Detection of airborne allergen (Pla a 1) in relation to *Platanus* pollen in Córdoba (S Spain). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(1), 96-101.

Aleksić, I., Vučković, O., Smiljanić, K., Gavrović-Jankulović, M., Krsmanović, V., Burazer, L. (2014). The importance of cross-reactivity in grass pollen allergy. *Archives of Biological Sciences*, 66(3), 1149-1155.

Alergológica. (2005). *Factores epidemiológicos, clínicos y socioeconómicos de las enfermedades alérgicas en España en 2005*. Madrid, España: SEAIC and Luzan.

Andersson, K., Lidholm, J. (2003). Characteristics and immunobiology of grass pollen allergens. *International Archives of Allergy and Immunology*, 130(2), 87-107.

ArcGIS9. (2009). *ArcGIS ArcView Version 9.3.1*. Redlands, Estados Unidos: Environmental Systems Research Institute Inc (ESRI).

Ariano, R., Canonica, G. W., Passalacqua, G. (2010). Possible role of climate changes in variations in pollen seasons and allergic sensitizations during 27 years. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 104(3), 215-222.

Asam, C., Hofer, H., Wolf, M., Aglas, L., Wallner, M. (2015). Tree pollen allergens-an update from a molecular perspective. *Allergy*, 70(10), 1201-1211.

Asero, R., Mistrello, G., Amato, S., Villalta, D. (2012). Monosensitization to a novel plane pollen allergen. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 44(4), 167-169.

Asturias, J. A., Ibarrola, I., Bartolomé, B., Ojeda, I., Malet, A., Martínez, A. (2002). Purification and characterization of Pla a 1, a major allergen from *Platanus acerifolia* pollen. *Allergy*, 57(3), 221-227.

Barber, D., De la Torre, F., Feo-Brito, F., Florido, J. F., Guardia, P., Moreno, C., Quiralte, J., Lombardero, M., Villalba, M., Salcedo, G., Rodríguez, R. (2008). Understanding patient sensitization profiles in complex pollen areas: a molecular epidemiological study. *Allergy*, 63(11), 1550-1558.

Barbieri, R., Botarelli, L., Salsi, A., Zinoni, F. (1989). *Guida alle rilevazioni agrofitologiche ed alla compilazione delle schede di rilevamento per le colture erbacee ed arboree*. Bologna, Italia: E.R.S.A.

Barnes, C., Pacheco, F., Landuyt, J., Hu, F., Portnoy, J. (2001). The effect of temperature, relative humidity and rainfall on airborne ragweed pollen concentrations. *Aerobiologia*, 17(1), 61-68.

Barranco, D., Fernández-Escobar, R., Rallo, L. (2008). *El Cultivo del Olivo* (6th Ed.). Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.

Barrios-Gutiérrez, J. (1941). Estudio polínico primaveral del campo de Sanlúcar de Barrameda y sus deducciones para la clínica. *Revista Clínica Española*, 6(1), 29-33.

- Bartková-Scevková, J. (2003). The influence of temperature, relative humidity and rainfall on the occurrence of pollen allergens (*Betula*, Poaceae, *Ambrosia artemisiifolia*) in the atmosphere of Bratislava, (Slovakia). *International Journal of Biometeorology*, 48(1), 1-5.
- Batista-Díaz, J. (1942). *Las observaciones fenológicas indicaciones para su implantación en España*. Madrid, España: Servicio Meteorológico Nacional, Ministerio del Aire.
- Batista-Díaz, J. (1943). *Atlas de plantas para las observaciones fenológicas*. Madrid, España: Servicio Meteorológico Nacional, Ministerio del Aire.
- Batley, N. H. (2000). Aspects of seasonality. *Journal of Experimental Botany*, 51(352), 1769-1780.
- Bauchau, V., Durham, S. R. (2004). Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. *The European Respiratory Journal*, 24(5), 758-764.
- Bauchau, V., Durham, S. R. (2005). Epidemiological characterization of the intermittent and persistent types of allergic rhinitis. *Allergy*, 60(3), 350-353.
- Beaubien, E. G., Johnson, D. L. (1994). Flowering plant phenology and weather in Alberta, Canada. *International Journal of Biometeorology*, 38(1), 23-27.
- Bello-González, M. A. (1988). Consideraciones metodológicas para estudios fenológicos en árboles templados de coníferas. *Ciencia Forestal*, 13(14), 89-109.
- Belmonte, J., Roure, J. M., March, X. (1998). Aerobiology of Vigo, North-Western Spain: atmospheric pollen spectrum and annual dynamics of the most important taxa, and their clinical importance for allergy. *Aerobiologia*, 14(2), 155-163.
- Belmonte, J., Canela, M., Guàrdia, R., Guàrdia, R. A., Sbai, L., Vendrell, M., Alba-Sánchez, F., Alcázar, P., Cabezudo, B., Gutiérrez, M., Méndez, J., Valencia, R. (1999). Aerobiological dynamics of the urticaceae pollen in Spain, 1992-1998. *Polen*, 10, 79-91.
- Berger, U., Karatzas, K., Jaeger, S., Voukantsis, D., Sofiev, M., Brandt, O., Zuberbier, T., Bergmann, K.-C. (2013). Personalized pollen-related symptom-forecast information services for allergic rhinitis patients in Europe. *Allergy*, 68(8), 963-965.
- Bielory, L., Friedlaender, M. H. (2008). Allergic conjunctivitis. *Immunology and Allergy Clinics of North America*, 28(1), 43-58.
- Blackley, C. H. (1873). *Experimental Researches on the Causes and Nature of Catarrhus Aestivus (Hay-Fever or Hay-Asthma)*. Oxford, Inglaterra: Oxford Historical Books.
- Blair, J., Nippert, J., Briggs, J. (2014). Grassland ecology. En Monson, R. K. (Ed.), *Ecology and the Environment, The Plant Sciences* 8 (pp. 390-421). Nueva York, Estados Unidos: Springer-Verlag.
- Blondel, J. (2006). The 'design' of Mediterranean landscapes: a millennial story of humans and ecological systems during the historic period. *Human Ecology*, 34(5), 713-729.
- Bonini, S., Coassin, M., Aronni, S., Lambiase, A. (2004). Vernal keratoconjunctivitis. *Eye (London, England)*, 18(4), 345-351.

Bostock, J. (1819). Case of a periodical affection of the eyes and chest. *Medico-Chirurgical Transactions*, 10(1), 161-165.

Bousquet, J., Khaltaev, N., Cruz, A. A., Denburg, J., Fokkens, W. J., Togias, A., Zuberbier, T., Baena-Cagnani, C. E., Canonica, G. W., van Weel, C., Agache, I., Ait-Khaled, N., Bachert, C., Blaiss, M. S., Bonini, S., Boulet, L. P., Bousquet, P. J., Camargos, P., Carlsen, K. H., Chen, Y., Custovic, A., Dahl, R., Demoly, P., Douagui, H., Durham, S. R., van Wijk, R. G., Kalayci, O., Kaliner, M. A., Kim, Y. Y., Kowalski, M. L., Kuna, P., Le, L. T., Lemiere, C., Li, J., Lockey, R. F., Mavale-Manuel, S., Meltzer, E. O., Mohammad, Y., Mullol, J., Naclerio, R., O'Hehir, R. E., Ohta, K., Ouedraogo, S., Palkonen, S., Papadopoulos, N., Passalacqua, G., Pawankar, R., Popov, T. A., Rabe, K. F., Rosado-Pinto, J., Scadding, G. K., Simons, F. E., Toskala, E., Valovirta, E., van Cauwenberge, P., Wang, D. Y., Wickman, M., Yawn, B. P., Yorgancioglu, A., Yusuf, O. M., Zar, H., Annesi-Maesano, I., Bateman, E. D., Ben-Kheder, A., Boakye, D. A., Bouchard, J., Burney, P., Busse, W. W., Chan-Yeung, M., Chavannes, N. H., Chuchalin, A., Dolen, W. K., Emuzyte, R., Grouse, L., Humbert, M., Jackson, C., Johnston, S. L., Keith, P. K., Kemp, J. P., Klossek, J. M., Larenas-Linnemann, D., Lipworth, B., Malo, J. L., Marshall, G. D., Naspitz, C., Nekam, K., Niggemann, B., Nizankowska-Mogilnicka, E., Okamoto, Y., Orru, M. P., Potter, P., Price, D., Stoloff, S. W., Vandenplas, O., Viegi, G., Williams, D. (2008). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*, 63(86), 8-160.

Bousquet, J., Heinzerling, L., Bachert, C., Papadopoulos, N. G., Bousquet, P. J., Burney, P. G., Canonica, G. W., Carlsen, K. H., Cox, L., Haahtela, T., Carlsen, K. C. L., Price, D., Samolinski, B., Simons, F. E. R., Wickman, M., Annesi-Maesano, I., Baena-Cagnani, C. E., Bergmann, K.-C., Bindeslev-Jensen, C., Casale, T. B., Chiriac, A., Cruz, A. A., Dubakiene, R., Durham, S. R., Fokkens, W. J., Gerth-van-Wijk, R., Kalayci, O., Kowalski, M. L., Mari, A., Mullol, J., Nazamova-Baranova, L., O'Hehir, R. E., Ohta, K., Panzner, P., Passalacqua, G., Ring, J., Rogala, B., Romano, A., Ryan, D., Schmid-Grendelmeier, P., Todo-Bom, A., Valenta, R., Woehrl, S., Yusuf, O. M., Zuberbier, T., Demoly, P. (2012). Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*, 67(1), 18-24.

Bradley, A. V., Gerard, F. F., Barbier, N., Weedon, G. P., Anderson, L. O., Huntingford, C., Aragão, L. O. C., Zelazowski, P., Arai, E. (2011). Relationships between phenology, radiation and precipitation in the Amazon region. *Global Change Biology*, 17(6), 2245-2260.

Breton, M. C., Garneau, M., Fortier, I., Guay, F., Louis, J. (2006). Relationship between climate, pollen concentrations of *Ambrosia* and medical consultations for allergic rhinitis in Montreal, 1994–2002. *Science of The Total Environment*, 370(1), 39-50.

Bricchi, E., Fornaciari, M., Giannoni, C., Greco, F., Fascini, D., Frenguelli, G., Mincigrucci, G., Romano, B. (1992). Fluctuations of grass pollen content in the atmosphere of East Perugia and meteorological correlations. *Aerobiologia*, 8(3), 401-406.

Brozek, J. L., Bousquet, J., Baena-Cagnani, C. E., Bonini, S., Canonica, G. W., Casale, T. B., van Wijk, R. G., Ohta, K., Zuberbier, T., Schünemann, H. J. (2010). Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) guidelines: 2010 revision. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(3), 466-476.

- Burbach, G. J., Heinzerling, L. M., Edenharter, G., Bachert, C., Bindslev-Jensen, C., Bonini, S., Bousquet, J., Bousquet-Rouanet, L., Bousquet, P. J., Bresciani, M., Bruno, A., Canonica, G. W., Darsow, U., Demoly, P., Durham, S., Fokkens, W. J., Giavi, S., Gjomarkaj, M., Gramiccioni, C., Haahtela, T., Kowalski, M. L., Magyar, P., Muraközi, G., Orosz, M., Papadopoulos, N. G., Röhnelt, C., Stingl, G., Todo-Bom, A., von Mutius, E., Wiesner, A., Wöhr, S., Zuberbier, T. (2009). GA(2)LEN skin test study II: clinical relevance of inhalant allergen sensitizations in Europe. *Allergy*, 64(10), 1507-1515.
- Burgos, F. (1991). Pólenes y medio ambiente: sensibilizaciones polínicas en Andalucía. *Actas XX Reunión de la Asociación de Alergólogos e Inmunólogos del Sur*, Huelva, España.
- Buters, J. T. M., Weichenmeier, I., Ochs, S., Pusch, G., Kreyling, W., Boere, A. J., Schober, W., Behrendt, H. (2010). The allergen Bet v 1 in fractions of ambient air deviates from birch pollen counts. *Allergy*, 65(7), 850-858.
- Camacho, I. C., Caeiro, E., Lopes, M. L., Gaspar, Â., Todo-Bom, A., Ferraz de Oliveira, J., Nunes, C., Rodrigo, A., Câmara, R., Pereira, M. J., Brandão, R., Morais de Almeida, M. (2011). The Portuguese Aerobiology Network. *Book of the 2nd International Congress of Southern European Allergy Societies*, Estoril, Portugal.
- Canto, G., Jiménez-Díaz, C. (1945). Estudio de los hongos en el aire de Madrid durante un año. *Revista Clínica Española*, 17(4), 226-238.
- Cárdaba, B., Llanes, E., Chacártégui, M., Sastre, B., López, E., Mollá, R., Del Pozo, V., Florido, J. F., Quiralte, J., Palomino, P., Lahoz, C. (2007). Modulation of allergic response by gene-environment interaction: olive pollen allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 17(1), 31-35.
- Cariñanos, P., Alcázar, P., Galán, C., Domínguez-Vilches, E. (2002). Privet pollen (*Ligustrum* sp.) as potential cause of pollinosis in the city of Córdoba, south-west Spain. *Allergy*, 57(2), 92-97.
- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E. (2004). Airborne pollen records response to climate conditions in arid areas of Iberian Peninsula. *Environmental and Experimental Botany*, 52(1), 11-22.
- Carracedo-Martínez, E., Sánchez, C., Taracido, M., Sáez, M., Jato, M. V., Figueiras, A. (2008). Effect of short-term exposure to air pollution and pollen on medical emergency calls: a case-crossover study in Spain. *Allergy*, 63(3), 347-353.
- Castellaro, G. G., Silva, G. M., Santibáñez, Q. F. (1994). Efecto de la radiación solar y la temperatura sobre las fenofases de las principales especies del pastizal mediterráneo anual. *Avances en Producción Animal*, 19(1-2), 65-75.
- Cecchi, L., D'Amato, G., Ayres, J. G., Galán, C., Forastiere, F., Forsberg, B., Gerritsen, J., Nunes, C., Behrendt, H., Akdis, C., Dahl, R., Annesi-Maesano, I. (2010). Projections of the effects of climate change on allergic asthma: the contribution of aerobiology. *Allergy*, 65(9), 1073-1081.
- Cervigón, P., Gutiérrez, M., Aránquez, E., Díaz, J. (2002). Forecasting for Poaceae pollen with temporal series, by applying ARIMA predictive models. *Proceedings 7th International Congress of Aerobiology*, Montebello, Canadá.

- Chen, X., Xu, C., Tan, Z. (2001). An analysis of relationships among plant community phenology and seasonal metrics of Normalized Difference Vegetation Index in the northern part of the monsoon region of China. *International Journal of Biometeorology*, 45(4), 170-177.
- Chen, N., Qu, X., Wu, Y., Huang, S. (2009). Regulation of actin dynamics in pollen tubes: control of actin polymer level. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51(8), 740-750.
- Chmielewski, F. M., Rötzer, T. (2001). Response of tree phenology to climate change across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology*, 108(2), 101-112.
- Chuine, I., Cambon, G., Comtois, P. (2000). Scaling phenology from the local to the regional level: advances from species-specific phenological models. *Global Change Biology*, 6(8), 943-952.
- Cingi, C., Gevaert, P., Mösges, R., Rondon, C., Hox, V., Rudenko, M., Muluk, N. B., Scadding, G., Manole, F., Hupin, C., Fokkens, W. J., Akdis, C., Bachert, C., Demoly, P., Mullol, J., Muraro, A., Papadopoulos, N., Pawankar, R., Rombaux, P., Toskala, E., Kalogjera, L., Prokopakis, E., Hellings, P. W., Bousquet, J. (2017). Multi-morbidities of allergic rhinitis in adults: European Academy of Allergy and Clinical Immunology Task Force Report. *Clinical and Translational Allergy*, 7(1), 17.
- Cirera, L., García-Marcos, L., Giménez, J., Moreno-Grau, S., Tobías, A., Pérez-Fernández, V., Elvira-Rendeles, B., Guillén, J. J., Navarro, C. (2012). Daily effects of air pollutants and pollen types on asthma and COPD hospital emergency visits in the industrial and Mediterranean Spanish city of Cartagena. *Allergologia et Immunopathologia*, 40(4), 231-237.
- Clary, J., Savé, R., Biel, C., De Herralde, F. (2004). Water relations in competitive interactions of Mediterranean grasses and shrubs. *Annals of Applied Biology*, 144(2), 149-155.
- Clayton, W. D., Renvoize, S. A. (1986). *Genera graminum. Grasses of the World*. Kew, Inglaterra: Kew Bulletin Additional Series.
- Cleland, E. E., Chiariello, N. R., Loarie, S. R., Mooney, H. A., Field, C. B. (2006). Diverse responses of phenology to global changes in a grassland ecosystem. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(37), 13740-13744.
- Consejería de Medio Ambiente (CMA). (2007). Mapa de Usos y Coberturas Vegetales del suelo de Andalucía. [Internet]
<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/site/rediam/menuitem.aedc2250f6db83cf8ca78ca731525ea0/?vgnnextoid=784efa937370f210VgnVCM1000001325e50aRCRD>
(acceso 1 de diciembre de 2013).
- Connor, H. E. (1979). Breeding system in the grasses: a survey. *New Zealand journal of Botany*, 17, 547-574.
- Cook, B. I., Wolkovich, E. M., Parmesan, C. (2012). Divergent responses to spring and winter warming drive community level flowering trends. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(23), 9000-9005.
- D'Amato, G., Liccardi, G. (2003). Allergenic pollen and urban air pollution in the Mediterranean area. *Allergy & Clinical Immunology International*, 15, 73-78.

- D'Amato, G. (2007). *Pollen allergy in Europe*. Bruselas, Bélgica: The UCB Institute of Allergy.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., Liccardi, G., Popov, T., van Cauwenberge, P. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62(9), 976-990.
- D'Amato, G., Cecchi, L. (2008). Effects of climate change on environmental factors in respiratory allergic diseases. *Clinical & Experimental Allergy*, 38(8), 1264-1274.
- D'Amato, G., Baena-Cagnani, C. E., Cecchi, L., Annesi-Maesano, I., Nunes, C., Ansotegui, I., D'Amato, M., Liccardi, G., Sofia, M., Canonica, W. G. (2013). Climate change, air pollution and extreme events leading to increasing prevalence of allergic respiratory diseases. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, 8(1), 12.
- Dahl, A., Galán, C., Hajkova, L., Pauling, A., Sikoparija, B., Smith, M., Vokou, D. (2013). The onset, course and intensity of the pollen season. En Sofiev, M., Bergmann, K.-C. (Eds.), *Allergenic pollen: A review of the production release, distribution and health impacts* (pp. 29-70). Dordrecht, Holanda: Springer Science+Business Media.
- Dales, R. E., Cakmak, S., Judek, S., Dann, T., Coates, F., Brook, J. R., Burnett, R. T. (2004). Influence of outdoor aeroallergens on hospitalization for asthma in Canada. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(2), 303-306.
- Dales, R. E., Cakmak, S., Judek, S., Coates, F. (2008). Tree pollen and hospitalization for asthma in urban Canada. *International Archives of Allergy and Immunology*, 146(3), 241-247.
- Dalgleish, H. J., Ott, J. P., Setshogo, M. P., Hartnett, D. C. (2012). Inter-specific variation in bud banks and flowering effort among semi-arid African savanna grasses. *South African Journal of Botany*, 83, 127-133.
- Damialis, A., Fotiou, C., Halley, J. M., Vokou, D. (2011). Effects of environmental factors on pollen production in anemophilous woody species. *Trees*, 25(2), 253-264.
- Darder i Rodés, J. B., Duran i Jordà, F. (1936). Los problemas de la alergia respiratoria. Estudio del factor polínico del aire de Barcelona. *Revista Médica de Barcelona*, 101-132.
- Davies, J. M. (2014). Grass pollen allergens globally: the contribution of subtropical grasses to burden of allergic respiratory diseases. *Clinical & Experimental Allergy*, 44(6), 790-801.
- Davies, J. M., Beggs, P. J., Medek, D. E., Newnham, R. M., Erbas, B., Thibaudon, M., Katelaris, C. H., Haberle, S. G., Newbigin, E. J., Huete, A. R. (2015). Trans-disciplinary research in synthesis of grass pollen aerobiology and its importance for respiratory health in Australasia. *Science of The Total Environment*, 534, 85-96.
- De Benito-Rica, V., Soto-Torres, J. (2001). Polinosis y aerobiología del polen en la atmósfera de Santander. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16, 84-90.
- De Cara, J. A. (2006). Notas para la historia de la fenología: la aportación del INM. *Boletín de la Asociación Meteorológica Española*, 14, 15-19.

De Cara, J. A., Mestre, A. (2006). La observación fenológica en agrometeorología y climatología. *XXIX Jornadas científicas de la Asociación Meteorológica Española*, Pamplona, España.

De Cara, J. A. (2008). Phenological observations at the Spanish meteorological service (INM): a brief history and present status. En Nekovar, J., Koch, E., Kubin, E., Nejedlik, P., Sparks, T., Wielgolaski, F. E. (Eds.), *The History and current status of plant phenology in Europe* (pp. 156-160). Bruselas, Bélgica: COST Action 725 - establishing a European Data Platform for Climatological Applications.

De Weger, L. A., Beerthuis, T., Gast-Strookman, J. M., van der Plas, D. T., Terreehorst, I., Hiemstra, P. S., Sont, J. K. (2011). Difference in symptom severity between early and late grass pollen season in patients with seasonal allergic rhinitis. *Clinical and Translational Allergy*, 1(1), 18.

De Weger, L. A., Bergmann, K.-C., Rantio-Lehtimäki, A., Dahl, A., Buters, J. T. M., Déchamp, C., Belmonte, J., Thibaudon, M., Cecchi, L., Besancenot, J.-P., Galán, C., Waisel, Y. (2013). Impact of Pollen. En Sofiev, M., Bergmann, K.-C. (Eds.), *Allergenic pollen: A review of the production release, distribution and health impacts* (pp. 161-215). Dordrecht, Holanda: Springer Science+Business Media.

Demarée, G. R., Chuine, I. (2006). A concise history of the phenological observations at the Royal Meteorological Institute of Belgium. En Dalezios, H., Tzortzios, S. (Eds.), *Proceedings Volumen III Phenology – Agroclimatology HAICTA 2006* (pp. 20-23). Volos, Grecia: HAICTA.

Demarée, G. R., Rutishauser, T. (2009). Origins of the word “phenology”. *EOS-Earth & Space Science News*, 90(34), 291.

Devesa, J. A., Carrión, J. S. (2012). *Las plantas con flor: apuntes sobre su origen, clasificación y diversidad*. Córdoba, España: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.

Díaz de la Guardia, C., Alba, F., Girón, F., Sabariego, S. (1998). An aerobiological study of Urticaceae pollen in the city of Granada (S Spain): correlation with meteorological parameters. *Grana*, 37, 298-304.

Dickinson, C. E., Dodd, J. L. (1976). Phenological pattern in the Shortgrass Prairie. *The American Midland Naturalist Journal*, 96(2), 367-378.

Docampo, S., Recio, M., Trigo, M. M., Melgar, M., Cabezudo, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain): a pollen calendar. *Aerobiologia*, 23, 189-199.

Domínguez-Vilches, E., García-Pantaleón, F. I., Galán, C., Guerra, F., Villamandos de la Torre, F. (1993). Variations in the concentrations of airborne *Olea* pollen and associated pollinosis in Córdoba (Spain): a study of the 10-year period 1982-1991. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 3(3), 121-129.

Domínguez-Vilches, E., Cariñanos, P., Galán, C., Guerra, F., García-Pantaleón, F. I., Villamandos de la Torre, F. (1995). Airborne pollen concentrations, solid particle content in the air and allergy symptoms in Córdoba (Spain). *Aerobiologia*, 11(2), 129-135.

Dopazo, M. A. (2001). Variación estacional y modelos predictivos de polen y esporas aeroalergénicos en Santiago de Compostela (tesis doctoral). Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España.

Edlund, A. F., Swanson, R., Preuss, D. (2004). Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. *The Plant Cell*, 16(1), S84-97.

Edmonds, R. L., Benninhoff, W. S. (1973). Aerobiology and its modern applications: a discipline of investigations of aerial transport of biological materials important to human health and welfare. *US Component of the International Biological Program, Aerobiology Program* (pp. 1-18). Michigan, Estados Unidos: University of Michigan.

Ellis, R. P. (1987). A review of comparative leaf blade anatomy in the systematics of the Poaceae: the past twenty-five years. En Soderstrom, T. R. (Ed.), *Grass systematics and evolution: an International Symposium held at the Smithsonian Institution, Washington D. C.* (pp. 3-10). Washington D. C., Estados Unidos: Smithsonian Institution Press.

Emberlin, J. C., Norris-Hill, J., Bryant, R. H. (1990). A calendar for tree pollen in London. *Grana*, 29(4), 301-309.

Emberlin, J., Jones, S., Bailey, J., Caulton, E., Corden, J., Dubbels, S., Evans, J., McDonagh, N., Millington, W., Mullins, J., Russel, R., Spencer, T. (1994). Variation in the start of the grass pollen season at selected sites in the United Kingdom 1987-1992. *Grana*, 33(2), 94-99.

Enrique-Miranda, E. (2002). Plátano de sombra. *Platanus (Platanus hispánica)*. En Valero-Santiago, A. L., Cadahía-García, A. (Eds.), *Polinosis. Polen y alergia* (pp. 149-154). Barcelona, España: MRA Ediciones, S.L.

Enrique-Miranda, E., Cisteró-Bahíma, A., Bartolomé, B., Alonso, R., San Miguel-Moncín, M. M., Bartra, J., Martínez, A. (2002). *Platanus acerifolia* pollinosis and food allergy. *Allergy*, 57(4), 351-356.

Erbas, B., Lowe, A. J., Lodge, C. J., Matheson, M. C., Hosking, C. S., Hill, D. J., Vicendese, D., Allen, K. J., Abramson, M. J., Dharmage, S. C. (2013). Persistent pollen exposure during infancy is associated with increased risk of subsequent childhood asthma and hayfever. *Clinical & Experimental Allergy*, 43(3), 337-343.

Erdtman, G. (1986). *Pollen morphology and plant taxonomy: Angiosperms*. Leiden, Holanda: Brill Archive.

Evans, L. T. (1964). Reproduction. En Barnard, C. (Ed.), *Grasses and Grasslands*. Londres, Inglaterra: McMillan & Co.

Faegri, K., van der Pijl, L. (1979). *The principles of pollination ecology* (3th Ed.). Oxford, Inglaterra: Pergamon Press.

Feo-Brito, F., Galindo-Bonilla, P. A., García-Rodríguez, R., Gómez-Torrijos, E., Fernández-Martínez, F., Fernández-Pacheco, R., Delicado-Gallego, A. (1998). Pólenes alergénicos en Ciudad Real: Aerobiología e incidencia clínica. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, 13(2), 79-85.

Feo-Brito, F., Mur-Gimeno, P., Carnés, J., Fernández-Caldas, E., Lara, P., Alonso, A. M., García, R., Guerra, F. (2010). Grass pollen, aeroallergens, and clinical symptoms in

Ciudad Real, Spain. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 20(4), 295-302.

Feo-Brito, F., Mur-Gimeno, P., Carnés, J., Martín, R., Fernández-Caldas, E., Lara, P., López-Fidalgo, J., Guerra, F. (2011). *Olea europaea* pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 106(2), 146-152.

Fernández-González, D., Suárez-Cervera, M., Díaz-González, T., Valencia-Barrera, R. M. (1993). Airborne pollen and spores of León (Spain). *International Journal of Biometeorology*, 37(2), 89-95.

Fernández-González, D., Valencia-Barrera, R. M., Vega, A., Díaz de la Guardia, C., Trigo, M. M., Cariñanos, P., Guàrdia, A., Pertiñez, C., Rodríguez-Rajo, F. J. (1999). Analysis of grass pollen concentrations in the atmosphere of several Spanish sites. *Polen*, 10, 127-132.

Fernández-González, D., González-Parrado, Z., Vega-Maray, A. M., Valencia-Barrera, R. M., Camazón-Izquierdo, B., De Nuntis, P., Mandrioli, P. (2010). *Platanus* pollen allergen, Pla a 1: Quantification in the atmosphere and influence on a sensitizing population. *Clinical & Experimental Allergy*, 40(11), 1701-1708.

Fernández-González, M., Guedes, A., Abreu, I., Rodríguez-Rajo, F. J. (2013). Pla a 1 aeroallergen immunodetection related to the airborne *Platanus* pollen content. *Science of The Total Environment*, 463-464, 855-860.

Fitter, A. H., Fitter, R. S. R., Harris, I. T. B., Williamson, M. H. (1995). Relationship between first flowering date and temperature in the flora of a locality in central England. *Functional Ecology*, 9(1), 55-60.

Florido, J. F., Delgado, P. G., De San Pedro, B. S., Quiralte, J., Arias de Saavedra, J. M., Peralta, V., Ruiz-Valenzuela, L. (1999). High levels of *Olea europaea* pollen and relation with clinical findings. *International Archives of Allergy and Immunology*, 119(2), 133-137.

Font-Quer, P. (1953). *Diccionario de Botánica* (3th Ed.). Barcelona, España: Ediciones Península.

Fornaciari, M., Bricchi, E., Greco, F., Fascinni, D., Giannoni, C., Frenguelli, G., Romano, B. (1992). Daily variations of Urticaceae pollen count and influence of meteorological parameters in East Perugia during 1989. *Aerobiologia*, 8(3), 407-413.

Fрати, F., Scurati, S., Puccinelli, P., David, M., Hilaire, C., Capece, M., Marcucci, F., Incorvaia, C. (2010). Development of a sublingual allergy vaccine for grass pollinosis. *Journal of Drug Design, Development and Therapy*, 4, 99-105.

Frei, T., Gassner, E. (2008). Climate change and its impact on birch pollen quantities and the start of the pollen season and example from Switzerland for the period 1969-2006. *International Journal of Biometeorology*, 52(7), 667-674.

Freile, M. B. (2001). Caracterización molecular e inmunoquímica del alérgeno principal del polen de *Plantago lanceolata*, Pla 1. Aplicación a la estandarización de extractos alérgicos (tesis doctoral). Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

- Frenguelli, G., Passalacqua, G., Bonini, S., Fiocchi, A., Incorvaia, C., Marcucci, F., Tedeschini, E., Canonica, G. W., Frati, F. (2010). Bridging allergologic and botanical knowledge in seasonal allergy: a role for phenology. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 105(3), 223-227.
- Frenguelli, G., Ghitarrini, S., Tedeschini, E. (2014). Climatic change in Mediterranean area and pollen monitoring. *Flora Mediterranea*, 24, 99-107.
- Fuhrman, C., Sarter, H., Thibaudon, M., Delmas, M. C., Zeghnoun, A., Lecadet, J., Caillaud, D. (2007). Short-term effect of pollen exposure on antiallergic drug consumption. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 99(3), 225-231.
- Galán, C., Tormo, R., Cuevas, J., García-Pantaleón, F. I., Domínguez-Vilches, E. (1991). Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the southwest of Spain. *Grana*, 30(1), 201-209.
- Galán, C., García-Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz-Valenzuela, L., Díaz de la Guardia, C., Trigo, M. M. (2005). Heat requirement for the onset of the *Olea europaea* L. pollen season in several places of Andalusia region and the effect of the expected future climate change. *International Journal of Biometeorology*, 49(3), 184-188.
- Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E. (2007). *Spanish Aerobiology Network (REA): management and quality manual*. Córdoba, España: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba.
- Galán C. Domínguez-Vilches, E. (2012). Effect of climate change on plant distribution and phenology in the Iberian Peninsula. *5th European Symposium on Aerobiology*, Cracovia, Polonia.
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., Berger, U., Clot, B., Brandão, R., EAS QC Working Group. (2014). Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*, 30(4), 385-395.
- Galán, C., Alcázar, P., Oteros, J., García-Mozo, H., Aira, M. J., Belmonte, J., Díaz de la Guardia, C., Fernández-González, D., Gutiérrez-Bustillo, A. M., Moreno-Grau, S., Pérez-Badía, R., Rodríguez-Rajo, J., Ruiz-Valenzuela, L., Tormo, R., Trigo, M. M., Domínguez-Vilches, E. (2016). Airborne pollen trends in the Iberian Peninsula. *Science of The Total Environment*, 550, 53-59.
- Galán, C., Plaza, M. P., Alcázar, P. (2017). Muestreo de aeroalérgenos polínicos. Análisis y comparativa de técnicas. *Revista de Salud Ambiental*, 17, 44-46.
- Gangl, K., Niederberger, V., Valenta, R. (2013). Multiple grass mixes as opposed to single grasses for allergen immunotherapy in allergic rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy*, 43(11), 1202-1216.
- García-Hernández, J. J. (2010). Detección de los niveles de proteínas alergénicas en el aire de *Olea europea* (Ole e 1). Cuantificación por métodos inmunológicos (tesis doctoral). Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España.
- García-Mozo, H., Galán, C., Gómez-Casero, M. T., Domínguez-Vilches, E. (2000). A comparative study of different temperature accumulation methods for predicting the *Quercus* pollen season start in Córdoba (southwest Spain). *Grana*, 39(4), 194-199.

García-Mozo, H., Galán, C., Aira, M. J., Belmonte, J., Díaz de la Guardia, C., Fernández, D., Gutiérrez-Bustillo, A. M., Rodríguez-Rajo, F. J., Trigo, M. M., Dominguez-Vilches, E. (2002). Modelling start of oak pollen season in different climatic zones in Spain. *Agricultural and Forest Meteorology*, 110(4), 247-257.

García-Mozo, H., Galán, C., Belmonte, J., Bermejo, D., Candau, P., Díaz de la Guardia, C., Elvira, B., Gutiérrez-Bustillo, A. M., Jato, M. V., Silva, I., Trigo, M. M., Valencia, R., Chuine, I. (2009). Predicting the start and peak dates of the Poaceae pollen season in Spain using process-based models. *Agriculture and Forest Meteorology*, 149(2), 256-262.

García-Mozo, H., Galán, C., Alcázar, P., Díaz de la Guardia, C., Nieto-Lugilde, D., Recio, M., Hidalgo, P., González-Minero, F., Ruiz-Valenzuela, L., Domínguez-Vilches, E. (2010). Trends in grass pollen season in southern Spain. *Aerobiologia*, 26(2), 157-169.

García-Mozo, H., Mestre, A., Galán, C. (2010). Phenological trends in southern Spain: a response to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(4), 575-580.

García-Mozo, H. (2011). The use of aerobiological data on agronomical studies. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 18(1), 1-6.

García-Mozo, H., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2012). A model to account for variations in holm-oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) acorn production in southern Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 19(3), 403-408.

García-Mozo, H., Yaezel, L., Oteros, J., Galán, C. (2014). Statistical approach to the analysis of olive long-term pollen season trends in southern Spain. *Science of The Total Environment*, 473-474, 103-109.

García-Mozo, H., Oteros, J., Galán, C. (2015). Phenological changes in olive (*Olea europaea* L.) reproductive cycle in southern Spain due to climate change. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 22(3), 421-428.

García-Mozo, H., Oteros, J. A., Galán, C. (2016). Impact of land cover changes and climate on the main airborne pollen types in southern Spain. *Science of the Total Environment*, 548, 221-228.

García-Mozo, H. (2017). Poaceae pollen as the leading aeroallergen worldwide: a review. *Allergy*, 72(12), 1849-1858.

Gaspar, A., Morais-Almeida, M., Nunes, C. (2006). Epidemiologia da asma grave. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 14(2), 27-41.

Ghitarrini, S., Galán, C., Frenguelli, G., Tedeschini, E. (2017). Phenological analysis of grasses (Poaceae) as a support for the dissection of their pollen season in Perugia (Central Italy). *Aerobiologia*, 33(3), 339-349.

Gibb, S., Strimmer, K. (2015). Differential protein expression and peak selection in mass spectrometry data by binary discriminant analysis. *Bioinformatics*, 31, 3156-3162.

Gioulekas, D., Balafoutis, C., Damialis, A., Papakosta, D., Gioulekas, G., Patakas, D. (2004). Fifteen years' record of airborne allergenic pollen and meteorological parameters in Thessaloniki, Greece. *International Journal of Biometeorology*, 48(3), 128-136.

- Gómez-Casero, M. T., Galán, C., Domínguez-Vilches, E. (2007). Flowering phenology of Mediterranean *Quercus* species in different locations (Córdoba, SW Iberian Peninsula). *Acta Botanica Malacitana*, (32), 127-146.
- González-Minero, F. J., Candau, P., Tomas, C., Morales, J. (1998). Airborne grass (Poaceae) pollen in southern Spain. Results of a 10-year study (1987-96). *Allergy*, 53(3), 266-274.
- González-Parrado, Z., Valencia-Barrera, R. M., Fuertes-Rodríguez, C., Vega-Maray, A. M., Pérez-Romero, R., Fraile, R., Fernández-González, D. (2009). Alternative statistical methods for interpreting airborne Alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertner) pollen concentrations. *International Journal of Biometeorology*, 53(1), 1-9.
- Gonzalo-Garijo, M. A., Tormo, R., Muñoz-Rodríguez, A. F., Silvia, I. (2006). Differences in the spatial distribution of airborne pollen concentrations at different urban locations within a city. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 16(1), 37-43.
- Gordo, O., Sanz, J. J. (2005). Phenology and climate change: a long-term study in a Mediterranean locality. *Oecologia*, 146(3), 484-495.
- Gordo, O., Sanz, J. J. (2009). Long-term temporal changes of plant phenology in the western Mediterranean. *Global Change Biology*, 15(8), 1930-1948.
- Gordo, O., Sanz, J. J. (2010). Impact of climate change on plant phenology in Mediterranean ecosystems. *Global Change Biology*, 16(3), 1082-1106.
- Gregory, P. H. (1973). *The Microbiology of the Atmosphere*. Plymouth, Inglaterra: Leonard Hill.
- Gremer, J. R., Bradford, J. B., Munson, S. M., Duniway, M. C. (2015). Desert grassland responses to climate and soil moisture suggest divergent vulnerabilities across the southwestern United States. *Global Change Biology*, 21(11), 4049-4062.
- Grzegorz, Z. (2011). Effect of climate change on phenology of forage grass species. *Journal of Life Sciences*, 5(9), 754-758.
- Guillam, M.-T., Antoine, L.-C., Chevallier, D., Dubreil, Y., Figureau, C., Morin, O., Pedrono, G., Riviere, D., Segala, C., Meunier, A. (2010). Prevention of pollinosis: study of an intervention providing information and advice to being treatment. *Revue Française d'Allergologie*, 50(6), 493-500.
- Héguy, L., Garneau, M., Goldberg, M. S., Raphoz, M., Guay, F., Valois, M. F. (2008). Associations between grass and weed pollen and emergency department visits for asthma among children in Montreal. *Environmental Research*, 106(2), 203-211.
- Heide, O. M. (1994). Control of flowering and reproduction in temperate grasses. *New Phytologist*, 128(2), 347-362.
- Heinzerling, L. M., Burbach, G. J., Edenharter, G., Bachert, C., Bindeslev-Jensen, C., Bonini, S., Bousquet, J., Bousquet-Rouanet, L., Bousquet, P. J., Bresciani, M., Bruno, A., Burney, P., Canonica, G. W., Darsow, U., Demoly, P., Durham, S., Fokkens, W. J., Giavi, S., Gjomarkaj, M., Gramiccioni, C., Haahtela, T., Kowalski, M. L., Magyar, P., Muraközi, G., Orosz, M., Papadopoulos, N. G., Röhnlert, C., Stingl, G., Todo-Bom, A.,

von Mutius, E., Wiesner, A., Wöhr, S., Zuberbier, T. (2009). GA(2)LEN skin test study I: GA(2)LEN harmonization of skin prick testing: novel sensitization patterns for inhalant allergens in Europe. *Allergy*, 64(10), 1498-1506.

Hely, S. E. L., Roxburgh, S. H. (2005). The interactive effects of elevated CO₂, temperature and initial size on growth and competition between a native C₃ and an invasive C₃ grass. *Plant Ecology*, 177(1), 85-98.

Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39(2), 257-265.

Holgate, S. T. (2008). Pathogenesis of asthma. *Clinical & Experimental Allergy*, 38(6), 872-897.

Howlett, B. J., Knox, R. B., Heslop-Harrison, J. (1973). Pollen-wall proteins: release of allergen antigen E from intine and exine sites in pollen grains of ragweed and *Cosmos*. *Journal of Cell Science*, 13(2), 603-619.

Hrabina, M. A., Peltre, G., van Ree, R., Moingeon, P. A. (2008). Grass pollen allergens. *Clinical & Experimental Allergy*, 8(1), 7-11.

Iglesias, I., Rodríguez-Rajo, F. J., Méndez, J. (2007). Behavior of *Platanus hispanica* pollen, an important spring aeroallergen in northwestern Spain. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 17(3), 145.

Iglesias-Otero, M. A. (2013). Bioinformática aplicada a la aerobiología (tesis doctoral). Universidad de Vigo, Vigo, España.

Instituto Geográfico Nacional (IGN). (2017). Mapa topográfico de España del Instituto Geográfico Nacional. [Internet] <http://www.ign.es/iberpix2/visor/> (acceso el 11 de junio de 2017).

Instituto Nacional de Estadística (INE). (2016). Cifras oficiales de población resultantes de la revisión del Padrón municipal a 1 de enero de 2016. [Internet] <http://www.ine.es/jaxiT3/Datos.htm?t=2911> (acceso el 11 de junio de 2017).

Instituto Nacional de Estadística (INE) (2017) Extensión superficial de los términos municipales de las capitales. [Internet] <http://www.ine.es/inebaseweb/pdfDispacher.do?td=173946> (acceso el 11 de junio de 2017).

Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático (IPCC). (2013). Introduction. En Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Alexander, L. V., Allen, S. K., Bindoff, N. L., Bréon, F.-M., Church, J. A., Cubasch, U., Emori, S., Forster, P., Friedlingstein, P., Gillett, N., Gregory, J. M., Hartmann, D. L., Jansen, E., Kirtman, B., Knutti, R., Krishna-Kumar, K., Lemke, P., Marotzke, J., Masson-Delmotte, V., Meehl, G. A., Mokhov, I. I., Piao, S., Ramaswamy, V., Randall, D., Rhein, M., Rojas, M., Sabine, C., Shindell, D., Talley, L. D., Vaughan, D. G., Xie, S.-P. (Eds.), *Climate Change 2013: The Physical Science Basis* (pp. 119-158). Nueva York, Estados Unidos: Cambridge University Press.

Jackson, M. (2007). *Allergy: the history of a modern malady*. Londres, Inglaterra: Reaktion.

- Jäger, S. (1995). Methodology for routinely performed monitoring of airborne pollen recommendations. *Aerobiologia*, 11, 69-70.
- Jato, M. V., Dopazo, A., Aira, M. J. (2002a). Influence of precipitation and temperature on airborne pollen in Santiago de Compostela (Spain). *Grana*, 44(4), 232-241.
- Jato, M. V., Rodríguez-Rajo, J., Méndez, J., Aira, M. J. (2002b). Phenological behaviour of *Quercus* in Ourense (NW Spain) and its relationship with the atmospheric pollen season. *International Journal of Biometeorology*, 46(4), 176-184.
- Jato, M. V., Rodríguez-Rajo, F. J., Aira, M. J. (2007). Use of *Quercus ilex* subsp. *ballota* phenological and pollen-production data for interpreting *Quercus* pollen curves. *Aerobiologia*, 23(2), 91-105.
- Jato, M. V., Rodríguez-Rajo, F. J., González-Parrado, Z., Elvira-Rendueles, B., Moreno-Grau, S., Vega-Maray, A., Fernández-González, D., Asturias, J. A., Suárez-Cervera, M. (2010). Detection of airborne Par j 1 and Par j 2 allergens in relation to Urticaceae pollen counts in different bioclimatic areas. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 105(1), 50-56.
- Ji, L., Peters, A. J. (2003). Assessing vegetation response to drought in the northern Great Plains using vegetation and drought indices. *Remote Sensing of Environment*, 87(1), 85-98.
- Jochner, S., Ziello, C., Böck, A., Estrella, N., Buters, J. T. M., Weichenmeier, I., Behrendt, H., Menzel, A. (2012). Spatio-temporal investigation of flowering dates and pollen counts in the topographically complex Zugspitze area on the German-Austrian border. *Aerobiologia*, 28(4), 541-556.
- Jochner, S., Lüpke, M., Laube, J., Weichenmeier, I., Pusch, G., Traidl-Hoffmann, C., Schmidt-Weber, C., Buters, J. T. M., Menzel, A. (2015). Seasonal variation of birch and grass pollen loads and allergen release at two sites in the German Alps. *Atmospheric environment*, 122, 83-93.
- Julien, Y., Sobrino, J. A. (2009). Global land surface phenology trends from GIMMS database. *International Journal of Remote Sensing*, 30(13), 3495-3513.
- Junta de Andalucía. (2017). Consejería de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio. Modelos de restauración forestal. Series de vegetación climatofilas y edafoxerofilas. [Internet]
http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/consolidado/publicacionesdigitales/40-762_ANEXO_CARTOGRAFICO_Y_SERIES_DE_VEGETACION-MODELOS_DE_RESTAURACION_FORESTAL/40-762/24_SERIES_DE_VEGETACION_CLIMATOFILAS_Y_EDAFOXEROFILAS-07.PDF (acceso el 12 de junio de 2017).
- Kasprzyk, I. (2009). Forecasting the start of *Quercus* pollen season using several methods - the evaluation of their efficiency. *International Journal of Biometeorology*, 53(4), 345-353.
- Kasprzyk, I., Walanus, A. (2010). Description of the main Poaceae pollen season using bi-Gaussian curves, and forecasting methods for the start and peak dates for this type of

season in Rzeszów and Ostrowiec Sw. (SE Poland). *Journal of Environmental Monitoring*, 12(4), 906-916.

Kirmaz, C., Yuksel, H., Bayrak, P., Yilmaz, O. (2005). Symptoms of the olive pollen allergy: do they really occur only in the pollination season. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 15(2), 140-145.

Kmenta, M., Bastl, K., Kramer, M. F., Hewings, S. J., Mwange, J., Zetter, R., Berger, U. (2016). The grass pollen season 2014 in Vienna: a pilot study combining phenology, aerobiology and symptom data. *Science of The Total Environment*, 566-567, 1614-1620.

Kmenta, M., Bastl, K., Berger, U., Kramer, M. F., Heath, M. D., Pätsi, S., Pessi, A.-M., Saarto, A., Werchan, B., Werchan, M., Zetter, R., Bergmann, K.-C. (2017). The grass pollen season 2015: a proof of concept multi-approach study in three different European cities. *The World Allergy Organization Journal*, 10(1), 31.

Koch, E. (2010). Global framework for data collection - Data bases, data availability, future networks, online databases. En Hudson, I. L., Keatley, M. R. (Eds.), *Phenological Research: methods for environmental and climate analysis* (pp. 23-61). Dordrecht, Holanda: Springer.

Kraaijeveld, K., De Weger, L. A., Ventayol-García, M., Buermans, H., Frank, J., Hiemstra, P. S., den Dunnen, J. T. (2015). Efficient and sensitive identification and quantification of airborne pollen using next-generation DNA sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 15(1), 8-16.

Kulmatiski, A., Beard, K. H. (2013). Woody plant encroachment facilitated by increased precipitation intensity. *Nature Climate Change*, 3(9), 833-837.

Laaïdi, M., Chinnet, T., Aegerter, P. (2011). Allergies au pollen, pollution et climat: revue de la littérature. *Revue Française d'Allergologie*, 51(7), 622-628.

Ladeau, S. L., Clark, J. S. (2006). Pollen production by *Pinus taeda* growing in elevated atmospheric CO₂. *Functional Ecology*, 20(3), 541-547.

Latorre, F., Belmonte, J. (2004). Temporal and spatial distribution of atmospheric Poaceae pollen in Catalonia (NE Spain) in 1996-2001. *Grana*, 43(3), 156-163.

Lechowicz, M. J. (2001). Phenology. En Mooney, H. A., Canadell, J. G. (Eds.), *Encyclopedia of Global Environmental Change, Volume 2 - The Earth System: biological and ecological dimensions of global environmental change* (pp. 461-465). Londres, Inglaterra: Wiley.

Lee, K. W., Chen, P. W., Yu, S. M. (2014). Metabolic adaptation to sugar/O₂ deficiency for anaerobic germination and seedling growth in rice. *Plant, Cell and Environment*, 37(10), 2234-2244.

León-Ruiz, E., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2011). Study of Poaceae phenology in a Mediterranean climate. Which species contribute most to airborne pollen counts? *Aerobiologia*, 21(1), 37-50.

León-Ruiz, E., García-Mozo, H., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2012). The use of geostatistics in the study of floral phenology of *Vulpia geniculata* (L.) Link. *The Scientific World Journal*, 2012(2012), 624247.

- Leonardi, S., Miraglia del Giudice, M., La Rosa, M., Bellanti, J. A. (2007). Atopic disease, immune system, and the environment. *Allergy and Asthma Proceedings*, 28(4), 410-417.
- Lieth, H. (1974). *Ecological studies: phenology and seasonality modeling*. Heidelberg, Alemania: Springer-Verlag.
- Lieth, H. (1997). Aims and methods in phenological monitoring. En Lieth, H., Schwartz, M. D. (Eds.), *Phenology in seasonal climates I* (pp. 1-21). Leiden, Holanda: Backhuys Publishers.
- Linares, V. B. (2010). Lifestyle and Allergy. *EAACI newsletter*, 22, 17-18.
- Linder, H. P., Lehmann, C. E. R., Archibald, S., Osborne, C. P., Richardson, D. M. (2017). Global grass (Poaceae) success underpinned by traits facilitating colonization, persistence and habitat transformation. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 93(2), 1125-1144.
- Linné, C. v. (1751). *Philosophia botanica, in qua explicantur Fundamenta Botanica, cum definitionibus partium, exemplis terminorum, observationibus rariorum, adjectis figuris aeneis*. Estocolmo, Suecia: Apud Godofr. Kiesewetter.
- Llamas, F., Acedo, C. (2002). Helping to know the grasses. *Proceedings 7th International Congress of Aerobiology*, Montebello, Canada.
- Luengo, O., Cadahía, A. (2003). Polinosis por *Parietaria*. *Alergología e Inmunología Clínica*, 18(3), 61-67.
- Ma, T., Zhou, C. G. (2012). Climate-associated changes in spring plant phenology in China. *International Journal of Biometeorology*, 56(2), 269-275.
- Majani, G., Baiardini, I., Giardini, A., Senna, G. E., Minale, P., D'Ulisse, S., Ciprandi, G., Canonica, G. W. (2001). Health-related quality of life assessment in young adults with seasonal allergic rhinitis. *Allergy*, 56(4), 313-317.
- Mandrioli, P., Comtois, P., Levizzani, V. (1998). *Methods in aerobiology*. Bolonia, Italia: Pitagora Editrice.
- Mandrioli, P., Ariatti, A. (2001). Aerobiology: future course of action. *Aerobiologia*, 17(1), 1-10.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Díaz de la Guardia, C., González-Minero, F. J., Ruiz-Valenzuela, L., Trigo, M. M., Galán, C. (2015). Pollen calendars: a guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia*, 31(4), 549-557.
- Medek, D.E., Kljakovic, M, Fox, I., Pretty, D. G., Prebble, M. (2012). Hay fever in a changing climate: linking an Internet-based diary with environmental data. *EcoHealth*, 9(4), 440-447.
- Meier, U. (2001). *Growth stages of mono-and dicotyledonous plants, BBCH monograph*. Berlin/Braunschweig, Alemania: Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry.

- Meier, U., Bleiholder, H., Buhr, L., Feller, C., Hack, H., Heß, M., Lancashire, P. D., Schnock, U., Stauß, R., van den Boom, T., Weber, E., Zwerger, P. (2009). The BBCH system to coding the phenological growth stages of plants -history and publications-. *Journal Für Kulturpflanzen*, 61(2), 41-52.
- Méndez, J., Comtois, P., Iglesias, I. (2005). *Betula* pollen: One of the most important aeroallergens in Ourense, Spain. Aerobiological studies from 1993 to 2000. *Aerobiologia*, 21(2), 115-123.
- Menzel, A., Fabian, P. (1999). Growing season extended in Europe. *Nature*, 397(6721), 659-659.
- Menzel, A. (2000). Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. *International Journal of Biometeorology*, 44(2), 76-81.
- Menzel, A., Estrella, N. (2001). Plant phenological changes. En Walther, G.-R., Burga C. A., Edwards, P. J. (Eds.), *Fingerprints of Climate Change-Adapted Behaviour and Shifting Species Ranges* (pp. 123-137). Nueva York, Estados Unidos: Kluwer Academic/Plenum Publishers.
- Menzel, A., Estrella, N., Fabian, P. (2001). Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996. *Global Change Biology*, 7(6), 657-666.
- Menzel, A. (2002). Phenology: its importance to the global change community. *Climatic change*, 54(4), 379-385.
- Menzel, A., Sparks, T. H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., Chmielewski, F. M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, A., Defila, C., Donnelly, A., Filella, Y., Jatzak, K., Måge, F., Mestre, A., Nordli, Ø., Peñuelas, J., Pirinen, P., Remišová, V., Scheifinger, H., Striz, M., Susnik, A., van Vliet, A. J. H., Wielgolaski, F.-E., Zach, S., Züst, A. (2006). European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology*, 12(10), 1969-1976.
- Milla, R., Castro-Díez, P., Montserrat-Martí, G. (2010). Phenology of Mediterranean woody plants from NE Spain: synchrony, seasonality, and relationships among phenophases. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(3), 190-199.
- Montserrat-Martí, G., Pérez-Rontomé, C. (2002). Fruit growth dynamics and their effects on the phenological pattern of native *Pistacia* populations in NE Spain. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 197(3), 161-174.
- Morais-Almeida, M., Loureiro, C., Todo-Bom, A., Nunes, C., Pereira, C., Delgado, L., Miranda, M., Castel-Branco, M. G. (2005). Avaliação da prevalência e caracterização da rinite em utentes dos cuidados de saúde primários de Portugal Continental–Estudo ARPA. *Revista Portuguesa de Imunoalergologia*, 13(2), 3-14.
- Moral de Gregorio, A., Senent-Sánchez, C., Cabañes-Higuero, N., García-Villamuza, Y., Gómez-Serranillos, M. (1998). Pólenes alergénicos y polinosis en Toledo. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, 13(2), 126-134.

- Morellato, L. P. C., Camargo, M. G. G., Gressler E. (2013). A review of plant phenology in South and Central America. En Schwartz, M. D. (Ed.), *Phenology: an integrative environmental science* (pp. 91-113). Dordrecht, Holanda: Springer.
- Moreno, S. J., Angosto, M., Elvira, B., Bayo, J., Moreno, J., Moreno-Clavel, J. (2000). Effects of meteorological parameters and plant distribution on Chenopodiaceae-Amaranthaceae, *Quercus*, and *Olea* airborne pollen concentrations in the atmosphere of Cartagena (Spain). *Aerobiologia*, 16(1), 17-20.
- Morren, C. (1849). Le globe, le temps et la vie. *Bulletins de l'Académie royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique*, 16, 660-684.
- Morren, C. (1853). Souvenirs phénologiques de l'hiver 1852-1853. *Bulletin de l'Académie royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique*, 20, 160-186.
- Munson, S. M., Muldavin, E. H., Belnap, J., Peters, D. P. C., Anderson, J. P., Hildegard-Reiser, M., Gallo, K., Melgoza-Castillo, A., Herrick, J. E., Christiansen, T. A. (2013). Regional signatures of plant response to drought and elevated temperature across a desert ecosystem. *Ecology*, 94(9), 2030-2041.
- Natt, R. S., Karkos, P. D., Natt, D. K., Theochari, E. G., Karkanevatos, A. (2011). Treatment trends in allergic rhinitis and asthma: a British ENT survey. *BMC Ear, Nose and Throat Disorders*, 11(1), 3.
- Navarro, A., Colás, C., Antón, E. D., García-Conde, J., Dávila, I., Dordal, M. T., Fernández-Parre, B., Pachón-Ibañez, M., Lluch-Bernal, M., Matheu, V., Montoro, J. B., Rondón, C., Castro-Sánchez, M., Valero, A. (2009). Epidemiology of Allergic Rhinitis in Allergy. Consultations in Spain: Alergológica-2005. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 19(2), 7-13.
- Newson, R. B., Ree, R., Forsberg, B., Janson, C., Lötvall, J., Dahlén, S. E., Toskala, E. M., Baelum, J., Brozek, G. M., Kasper, L., Kowalski, M. L., Howarth, P. H., Fokkens, W. J., Bachert, C., Keil, T., Krämer, U., Bislimovska, J., Gjomarkaj, M., Loureiro, C., Burney, P. G., Jarvis, D. (2014). Geographical variation in the prevalence of sensitization to common aeroallergens in adults: the GA(2) LEN survey. *Allergy*, 69(5), 643-651.
- Nowak, M., Szymanska, A., Grewling, L. (2012). Allergic risk zones of plane tree pollen (*Platanus* sp.) in Poznan. *Postepy Dermatologii i Alergologii*, 29(3), 156-160.
- Orlandi, F., Bonofiglio, T., Ruga, L., Sgromo, C., Romano, B., Fornaciari, M. (2007). Phenological investigations of different winter-deciduous species growing under Mediterranean conditions. *Annals of forest science*, 64(5), 557-568.
- Oteros, J., García-Mozo, H., Vázquez, L., Mestre, A., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2013). Modelling olive phenological response to weather and topography. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 179, 62-68.
- Oteros, J., García-Mozo, H., Botey, R., Mestre, A., Galán, C. (2015). Variations in cereal crop phenology in Spain over the last twenty-six years (1986-2012). *Climatic Change*, 130(4), 545-558.
- Ozturk, M., Guvensen, A., Gucel, S., Altay, V. (2013). An overview of the atmospheric pollen in Turkey and the northern Cyprus. *Pakistan Journal of Botany*, 45(1), 191-195.

- Palacio, S., Milla, R., Montserrat-Martí, G. (2005). A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 200(6), 527-534.
- Pangtey, Y. P. S., Rawal, R. S., Bankoti, N. S., Samant, S. S. (1990). Phenology of high-altitude plants of Kumaun in Central Himalaya. *India International Journal of Biometeorology*, 34(2), 122-127.
- Parmesan, C., Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421(6918), 37-42.
- Pawankar, R., Canonica, G. W., Holgate, S. T., Lockey, R. F. (2011). *WAO White book on allergy*. Milwaukee, Estados Unidos: World Allergy Organization.
- Pennington, D. D., Collins, S. L. (2007). Response of an aridland ecosystem to interannual climate variability and prolonged drought. *Landscape Ecology*, 22(6), 897-910.
- Peñuelas, J., Filella, I., Comas, P. (2002). Changed plant and animal life cycles from 1952 to 2000 in the Mediterranean region. *Global Change Biology*, 8(6), 531-544.
- Pereira, C., Valero-Santiago, A. L., Loureiro, C., Dávila, I., Martínez-Cocera, C., Murio, C., Rico, P., Palomino, R. (2006). Iberian study of aeroallergens sensitisation in allergic rhinitis. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 38(6), 186-194.
- Pérez-Badía, R., Rapp, A., Morales, C., Sardinero, S., Galán, C., García-Mozo, H. (2010). Pollen spectrum and risk of pollen allergy in central Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 17(1), 139-151.
- Pérez, C. F., Gassmann, M. I., Covi, M. (2009). An evaluation of the airborne pollen–precipitation relationship with the superposed epoch method. *Aerobiologia*, 25(4), 313-320.
- Perveen, A. (2006). A contribution to the pollen morphology of family Gramineae. *World Applied Sciences Journal*, 1(2), 60-65.
- Pfaar, O., Bastl, K., Berger, U., Buters, J. T. M., Calderon, M. A., Clot, B., Darsow, U., Demoly, P., Durham, S. R., Galán, C., Gehrig, R., van Wijk, R. G., Jacobsen, L., Klimek, L., Sofiev, M., Thibaudon, M., Bergmann, K.-C. (2017). Defining pollen exposure times for clinical trials of allergen immunotherapy for pollen-induced rhinoconjunctivitis - an EAACI position paper. *Allergy*, 72(5), 713-722.
- Piao, S., Fang, J. H. (2006). Variations in vegetation net primary production in the Qinghai-Xizang Plateau, China, from 1982 to 1999. *Climate Change*, 74(1), 253-267.
- Pitt, A. D., Smith, A. F., Lindsell, L., Voon, L. W., Rose, P. W., Bron, A. J. (2004). Economic and quality of life impact of seasonal allergic conjunctivitis in Oxfordshire. *Ophthalmic Epidemiology*, 11(1), 17-33.
- Plaza, M. P., Alcázar, P., Hernández-Ceballos, M. A., Galán, C. (2016). Mismatch in aeroallergens and airborne grass pollen concentrations. *Atmospheric Environment*, 144, 361-369.

- Plötz, S. G., Traidl-Hoffmann, C., Feussner, I., Kasche, A., Feser, A., Ring, J., Jakob, T., Behrendt, H. (2004). Chemotaxis and activation of human peripheral blood eosinophils induced by pollen-associated lipid mediators. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(6), 1152-1160.
- Prieto-Baena, J. C., Hidalgo, P. J., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2003). Pollen production in the Poaceae family. *Grana*, 42(3), 153-159.
- Primack, R. B., Ibáñez, I., Higuchi, H., Lee, S. D., Miller-Rushing, A. J., Wilson, A. M., Silander Jr., J. A. (2009). Spatial and interspecific variability in phenological responses to warming temperatures. *Biological Conservation*, 142(11), 2569-2577.
- QGIS Development Team. (2014). *QGIS Geographic Information System*. Open Source Geospatial Foundation Project.
- Quirce, S. (2009). Asthma in Alergológica-2005. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 19(2), 14-20.
- R Core Team. (2013). *R: a language and environment for statistical computing*. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Recio, M., Cabezudo, B., Trigo, M. M., Toro, J. (1996). *Olea europaea* pollen in the atmosphere of Málaga (Spain) and its relationship with meteorological parameters. *Grana*, 35(5), 308-313.
- Recio, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, M. V., Trigo, M. M., Cabezudo, B. (2009). The effect of recent climatic trends on Urticaceae pollination in two bioclimatically different areas in the Iberian Peninsula: Málaga and Vigo. *Climate Change*, 97(1-2), 215-228.
- Recio, M., Docampo, S., García-Sánchez, J., Trigo, M. M., Melgar, M., Cabezudo, B. (2010). Influence of temperature, rainfall and wind trends on grass pollination in Málaga (western Mediterranean coast). *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(7), 931-940.
- Ring, J., Gutermuth, J. (2011). 100 years of hyposensitization: history of allergen-specific immunotherapy (ASIT). *Allergy*, 66(6), 713-724.
- Rivas-Martínez, S. (1987). *Memoria del mapa de series de vegetación de España: 1: 400.000*. Madrid, España: I.C.O.N.A.
- Rizzi-Longo, L., Pizzulin-Sauli, M., Ganis, P. (2004). Aerobiology of Urticaceae pollen in Trieste (NE Italy). *Aerobiologia*, 20(1), 53-61.
- Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, M. V., Aira, M. J. (2003). Pollen contents in the atmosphere of Lugo (NW Spain) with reference to meteorological factors (1999-2001). *Aerobiologia*, 19(3-4), 213-225.
- Rodríguez-Rajo, F. J., Astray, G., Ferreira-Lage, J. A., Aira, M. J., Jato, M. V., Mejuto, J. C. (2010). Evaluation of atmospheric Poaceae pollen concentration using a neural network applied to a coastal Atlantic climate region. *Neural Networks*, 23(3), 419-425.
- Rogers, C. A., Wayne, P. M., Macklin, E. A., Muilenberg, M. L., Wagner, C. J., Epstein, P. R., Bazzaz, F. A. (2006). Interaction of the onset of spring and elevated atmospheric CO₂ on ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen production. *Environmental health perspectives*, 114(6), 865-869.

- Rojo, J., Pérez-Badía, R. (2014). Effects of topography and crown-exposure on olive tree phenology. *Trees*, 28(2), 449-459.
- Rojo, J., Salido, P., Pérez-Badía, R. (2015). Flower and pollen production in the ‘Cornicabra’ olive (*Olea europaea* L.) cultivar and the influence of environmental factors. *Trees*, 29(4), 1235-1245.
- Romero-Morte, J., Rojo, J., Rivero, R., Fernández-González, F., Pérez-Badía, R. (2018). Standardised index for measuring atmospheric grass-pollen emission. *Science of The Total Environment*, 612, 180-191.
- Rosario, N., Bielory, L. (2011). Epidemiology of allergic conjunctivitis. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 11(5), 471-476.
- Rötzer, T., Wittenzeller, M., Haeckel, H., Nekovar, J. (2000). Phenology in central Europe-differences and trends of spring phenophases in urban and rural areas. *International Journal of Biometeorology*, 44(2), 60-66.
- Rötzer, T., Chmielewski, F. M. (2001). Phenological maps of Europe. *Climate research*, 18(3), 249-257.
- Ruga, L., Bonofiglio, T., Orlandi, F., Romano, B., Fornaciari, M. (2008). Analysis of the potential fungal biodeteriogen effects in the “Doctorate Library” of the University of Perugia, Italy. *Grana*, 47(1), 60-69.
- Sánchez-Mesa, J. A., Smith, M., Emberlin, J., Allit, U., Caulton, E., Galán C. (2003). Characteristics of grass pollen seasons in areas of southern Spain and the United Kingdom. *Aerobiologia*, 19(3-4), 243-250.
- Sánchez-Mesa, J. A., Serrano, P., Cariñanos, P., Prieto-Baena, J. C., Moreno, C., Guerra, F., Galán, C. (2005). Pollen allergy in Córdoba City: frequency of sensitization and relation with antihistamine sales. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 15(1), 50-56.
- Sarmiento, G. (1983). Patterns of specific and phenological diversity in the grass community of the Venezuelan tropical savannas. *Journal of Biogeography*, 10(5), 373-391.
- Schnelle, F. (1955). *Pflanzenphänologie*. Leipzig, Alemania: Geest & Portig K.-G.
- Schwartz, M. D., Ahas, R., Aasa, A. (2006). Onset of spring starting earlier across the Northern Hemisphere. *Global Change Biology*, 12(2), 343-351.
- Schwartz, M. D. (2013). Introduction. En Schwartz, M. D. (Ed.), *Phenology: an integrative environmental science* (pp. 1-5). Dordrecht, Holanda: Springer.
- Scichilone, N., Sanfilippo, A., Sorino, C., Giuliano, L., Misseri, M., Bellia, V. (2013). Allergen sensitizations in southern Italy: a 5-year retrospective study in allergic respiratory patients. *European Annals of Allergy and Clinical Immunology*, 45(3), 97-102.
- Shah, R., Grammer, L. C. (2012). An overview of allergens. *Allergy and Asthma Proceedings*, 33(1), S2-5.

- Shantz, H. L. (1954). The place of grasslands in the Earth's cover of vegetation. *Ecology*, 35, 143-145.
- Silva, I., Tormo, R., Muñoz-Rodríguez, A. F. (2000). Influence of wind direction on pollen concentrations in the atmosphere. *International Journal of Biometeorology*, 44(3), 128-133.
- Silva, I., Tormo, R., Muñoz-Rodríguez, A. F. (2007). The importance of interactions between meteorological conditions when interpreting their effect on the dispersal of pollen from homogeneously distributed sources. *Aerobiologia*, 23(1), 17.
- Singer, B. D., Ziska, L. H., Frenz, D. A., Gebhard, D. E., Straka, J. G. (2005). Increasing Amb a 1 content in common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) pollen as a function of rising atmospheric CO₂ concentration. *Functional Plant Biology*, 32(7), 667-670.
- Smith, M., Emberlin, J. (2006). A 30-day-ahead forecast model for grass pollen in north London, United Kingdom. *International Journal of Biometeorology*, 50(4), 233-242.
- Soreng, R. J., Peterson, P. M., Romaschenko, K., Davidse, G., Zuloaga, F. O., Judziewicz, E. J., Filgueiras, T. S., Davis, J. I., Morrone, O. (2015). A worldwide phylogenetic classification of the Poaceae (Gramineae). *Journal of Systematics and Evolution*, 53(2), 117-137.
- Spano, D., Zinder, R. L., Cesaraccio, C. (2003). Mediterranean Climates. En Schwartz, M. D. (Ed.), *Phenology: An integrative Environmental Science* (pp. 139-156). Dordrecht, Holanda: Springer.
- Sparks, T. H., Jeffree, E. P., Jeffree, C. E. (2000). An examination of relationships between flowering times and temperature at the national scale using long-term phenological record from the UK. *International Journal of Biometeorology*, 44(2), 82-87.
- Spieksma, F. Th. M., Nikkels, A. H. (1998). Airborne grass pollen in Leiden, The Netherlands: annual variations and trends in quantities and season start over 26 years. *Aerobiologia*, 14, 347-358.
- Staff, I. A., Taylor, P. E., Smith, P., Singh, M. B., Knox, R. B. (1990). Cellular localization of water soluble, allergenic proteins in rye-grass (*Lolium perenne*) pollen using monoclonal and specific IgE antibodies with immunogold probes. *The Histochemical Journal*, 22(5), 276-290.
- Subiza, J., Jerez, M., Jiménez, J. A., Narganes, M. J., Cabrera, M., Varela, S., Subiza, E. (1995). Allergic pollen and pollinosis in Madrid. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 96(1), 15-23.
- Subiza, J. (2001). How to interpret pollen counts. *Alergología e Inmunología Clínica*, 16(2), 59-68.
- Subiza, J., Jerez, M., Rodríguez, R., López, G. (2002). Gramíneas. Poaceae. En Valero-Santiago, A. L., Cadahía-García, A. (Eds.), *Polinosis. Polen y alergia* (pp. 25-40). Barcelona, España: MRA Ediciones, S.L.
- Subiza, J. (2003). Gramíneas: aerobiología y polinosis en España. *Revista Española de Alergología e Inmunología Clínica*, 18(3), 7-23.

- Takasaki, K., Enatsu, K., Kumagami, H., Takahashi, H. (2009). Relationship between airborne pollen count and treatment outcome in Japanese cedar pollinosis patients. *European Archives of Otorhinolaryngology*, 266(5), 673-676.
- Tao, F., Yokozawa, M., Xu, Y., Hayashi, Y., Zhang, Z. (2006). Climate changes and trends in phenology and yields of field crops in China, 1981-2000. *Agricultural and Forest Meteorology*, 138(1), 82-92.
- Taylor, P. E., Flagan, R. C., Valenta, R., Glovsky, M. M. (2002). Release of allergens as respirable aerosols: a link between grass pollen and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109(1), 51-56.
- Throop, H. L., Reichmann, L. G., Sala, O. E., Archer, S. R. (2012). Response of dominant grass and shrub species to water manipulation: an ecophysiological basis for shrub invasion in a Chihuahuan Desert grassland. *Oecologia*, 169(2), 373-383.
- Tobías, A., Galán, I., Banegas, J. R., Aránguez, E. (2003). Short term effects of airborne pollen concentrations on asthma epidemic. *Thorax*, 58(8), 708-710.
- Tobías, A., Galán, I., Banegas, J. R. (2004). Non-linear short-term effects of airborne pollen levels with allergenic capacity on asthma emergency room admissions in Madrid, Spain. *Clinical & Experimental Allergy*, 34(6), 871-878.
- Tobías, A., Sáez, M., Galán, I., Banegas, J. R. (2009). Point-wise estimation of non-linear effects of airborne pollen levels on asthma emergency room admissions. *Allergy*, 64(6), 961-962.
- Tormo, R., Silva, I., Gonzalo, A., Moreno, A., Pérez, R., Fernández-Rodríguez, S. (2011). Phenological records as a complement to aerobiological data. *International Journal of Biometeorology*, 55(1), 51-65.
- Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Jakob, T., Huger, M., Plötz, S., Feussner, I., Ring, J., Behrendt, H. (2002). Lipid mediators from pollen act as chemoattractants and activators of polymorphonuclear granulocytes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109(5), 831-838.
- Traidl-Hoffmann, C., Kasche, A., Menzel, A., Jakob, T., Thiel, M., Ring, J., Behrendt, H. (2003). Impact of pollen on human health: more than allergen carriers? *International Archives of Allergy and Immunology*, 131(1), 1-13.
- Tran, N. P., Vickery, J., Blaiss, M. S. (2011). Management of rhinitis: allergic and non-allergic. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 3(3), 148-156.
- Trigo, M. M., Fernández-González, D., Jato, M. V., Galán, C. (2008). *Atlas aeropalínológico de España. Red Española de Aerobiología*. León, España: Editorial de la Universidad de León.
- Tucker, C. J., Slayback, D. A., Pinzon, J. E., Los, S. O., Myneni, R. B., Taylor, M. G. (2001). Higher northern latitude normalized difference vegetation index and growing season trends from 1982 to 1999. *International Journal of Biometeorology*, 45(4), 184-190.

- Usó-Domenech, J. L., Villacampa-Esteve, Y., Stübing-Martínez, G., Karjalainen, T., Ramo, M. P. (1995). MARIOLA: a model for calculating the response of mediterranean bush ecosystem to climatic variations. *Ecological Modelling*, 80(2-3), 113-129.
- Valdés, B., Talavera, S., Fernández-Galiano, E. (1987). *Flora vascular de Andalucía Occidental, Volumen 3*. Barcelona, España: Ketres Editora.
- Valero-Santiago, A. L., Cadahía-García, A. (2002). *Polinosis. Polen y alergia*. Barcelona, España: MRA Ediciones, S.L.
- Valero-Santiago, A. L., Cadahía-García, A. (2005). *Polinosis II. Polen y alergia*. Barcelona, España: MRA Ediciones, S.L.
- Valle Buenestado, B. (2016). La Sierra Morena cordobesa: naturaleza, génesis del paisaje y patrimonio ambiental. Bienes, paisajes e itinerarios. *Revista pH*, 90, 30-47.
- Varela, S., Subiza, J., Subiza, J. L., Rodríguez, R., García, B., Jerez, M., Jiménez, J. A., Panzani, R. (1997). *Platanus* pollen as an important cause of pollinosis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100(6), 748-754.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., Galán, C. (2013). Comparative study of airborne pollen counts located in different areas of the city of Córdoba (southwestern Spain). *Aerobiologia*, 29(1), 113-120.
- Velasco-Jiménez, M. J., Arenas, M., Alcázar, P., Galán, C., Domínguez-Vilches, E. (2015). Aerobiological and phenological study of *Pistacia* in Córdoba City (Spain). *Science of The Total Environment*, 505, 1036-1042.
- Vercelli, D. (2010). Gene-environment interactions in asthma and allergy: the end of the beginning? *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 10(2), 145-148.
- Viéitez-Cortizo, E. (1946). Polen y clima en Santiago de Compostela. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, 6(1), 159-166.
- Volaire, F., Norton, M. (2006). Summer dormancy in perennial temperate grasses. *Annals of Botany*, 98(5), 927-933.
- Walker, M. D., Wahren, C. H., Hollister, R. D., Henry, G. H. R., Ahlquist, L. E., Alatalo, J. M., Bret-Harte, S., Calef, M. P., Callaghan, T. V., Carroll, A. B., Epstein, H. E., Jónsdóttir, I. S., Klein, J. A., Magnússon, B., Molau, U., Oberbauer, S. F., Rewa, S. P., Robinson, C. H., Shaver, G. R., Suding, K. N., Thompson, C. C., Tolvanen, A., Totland, Ø., Lee-Turner, P., Tweedie, C. E., Webber, P. J., Wookey, P. A. (2006). Plant community responses to experimental warming across the tundra biome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(5), 1342-1346.
- Walther, G. R. (2010). Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 365(1549), 2019-2024.
- Watson, L., Dallwitz, M. J. (1992). *The grass genera of the world*. Wallingford, Inglaterra: CAB International.
- Weber, R. W. (2007). Cross-reactivity of pollen allergens: impact on allergen immunotherapy. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 99(3), 203-212.

- Werker, E. (1997). *Seed Anatomy*. Berlin, Alemania: Borntraeger.
- White, M. A., De Beurs, K. M., Didan, K., Inouye, D. W., Richardson, A. D., Jensen, O. P., O'Keefe, J., Zhang, G., Nemani, R. R., van Leeuwen, W. J. D., Brown, J. F., De Wit, A., Schaepman, M., Lin, X., Dettinger, M., Bailey, A. S., Kimball, J., Schwartz, M. D., Baldocchi, D. D., Lee, J. T., Lauenroth, W. K. (2009). Intercomparison, interpretation, and assessment of spring phenology in North America estimated from remote sensing for 1982-2006. *Global Change Biology*, 15(10), 2335-2359.
- Wipf, S. (2010). Phenology, growth, and fecundity of eight subarctic tundra species in response to snowmelt manipulations. *Plant Ecology*, 207(1), 53-66.
- Xiao, D., Tao, F., Liu, Y., Shi, W., Wang, M., Liu, F., Zhang, S., Zhu, Z. (2013). Observed changes in winter wheat phenology in the North China Plain for 1981-2009. *International Journal of Biometeorology*, 57(2), 275-285.
- Yu, F. F., Price, K. P., Ellis, P. J. (2003). Shi Response of seasonal vegetation development to climatic variations in eastern central Asia. *Remote Sensing of Environment*, 87(1), 42-54.
- Yukselen, A., Kendirli, S. G. (2014). Role of immunotherapy in the treatment of allergic asthma. *World Journal of Clinical Cases*, 2(12), 859-865.
- Zeghnoun, A., Ravault, C., Fabres, B., Lecadet, J., Quénel, P., Thibaudon, M., Caillaud, D. (2005). Short-term effects of airborne pollen on the risk of allergic rhinoconjunctivitis. *Archives of Environmental & Occupational Health*, 60(3), 170-176.
- Zhang, X., Friedl, M. A., Schaaf, C. B., Strahler, A. H., Liu, Z. (2005). Monitoring the response of vegetation phenology to precipitation in Africa by coupling MODIS and TRMM instruments. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 110(D12), D12103.
- Zhang, G., Hayden, C. M., Khoo, S. K., Candelaria, P., Laing, I. A., Turner, S., Franklin, P., Stick, S., Landau, L., Goldblatt, J., Le-Souëf, P. N. (2007). Beta2-Adrenoceptor polymorphisms and asthma phenotypes: interactions with passive smoking. *The European Respiratory Journal*, 30(1), 48-55.
- Zhang, G., Goldblatt, J., Le-Souëf, P. N. (2008). Does the relationship between IgE and the CD14 gene depend on ethnicity? *Allergy*, 63(11), 1411-1417.
- Zhang, G., Candelaria, P., Mäkelä, J. M., Khoo, S. K., Hayden, M. C., von Hertzen, L., Laatikainen, T., Vartiainen, E., Goldblatt, J., Haahtela, T., Le-Souëf, P. N. (2011). Disparity of innate immunity-related gene effects on asthma and allergy on Karelia. *Pediatric Allergy and Immunology*, 22(6), 621-630.
- Ziello, C., Sparks, T. H., Estrella, N., Belmonte, J., Bergmann, K.-C., Bucher, E., Menzel, A. (2012). Changes to airborne pollen counts across Europe. *PLoS One*, 7(4), e34076.
- Ziska, L. H., Caulfield, F. A. (2000). Rising CO₂ and pollen production of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.), a known allergy-inducing species: implications for public health. *Functional Plant Biology*, 27(10), 893-898.

Ziska, L. H., Gebhard, D. E., Frenz, D. A., Faulkner, S., Singer, B. D., Straka, J. G. (2003). Cities as harbingers of climate change: common ragweed, urbanization, and public health. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111(2), 290-295.



11. ANEXOS

HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE

TÍTULO DEL ESTUDIO: Cantidad de polen en el aire en la ciudad de Córdoba (España) y su incidencia en las alergias al polen.

INVESTIGADORES: Jesús Cebrino Cruz.
Contacto: z32cecrj@uco.es
Silvia Portero de la Cruz.
María José Barasona Villarejo.
Purificación Alcázar Teno.
Carmen Moreno Aguilar.
Eugenio Domínguez Vilches.
Carmen Galán Soldevilla.

CENTRO: Universidad de Córdoba.

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar.

Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda considerar su participación en este estudio. Para ello, lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar, cambiar su decisión o retirar el consentimiento en cualquier momento sin obligación de dar explicaciones.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

En la investigación se pretende: determinar la relación entre la cantidad de polen en el aire y su incidencia en las alergias al polen e investigar el uso de medicamentos para tratar los diversos síntomas mostrados por los sujetos alérgicos al polen.

Su participación consistirá en la cumplimentación de los siguientes formularios:

Formulario sobre datos sociodemográficos y relacionados con alergia al polen. Se ha diseñado uno original y específico de 6 ítems de respuesta estructurada.

Usted está invitado/a a participar porque cumple los siguientes criterios: es mayor de 18 años, padece rinitis, conjuntivitis o asma durante la primavera debido al polen (síntomas principalmente desde marzo a junio), reside en la ciudad de Córdoba durante al menos los últimos dos años y ha dado positivo en una prueba de alergia al polen realizado por un/a alergólogo/a.

BENEFICIOS Y RIESGOS DERIVADOS DE SU PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

Es probable que no reciba ningún beneficio personal por su participación en este estudio. En cualquier caso, los datos recogidos en el mismo podrán derivar en un mayor conocimiento sobre las alergias al polen en la ciudad de Córdoba (España). Tampoco se deriva ningún riesgo de su participación.

CONFIDENCIALIDAD

Todos los datos referentes a su participación en el estudio se almacenarán y analizarán en una base de datos electrónica, sin mención expresa de su nombre, de acuerdo con la legislación vigente (Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal). De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio.

OTRA INFORMACIÓN RELEVANTE

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Los resultados de este estudio podrán ser remitidos a publicaciones científicas para su difusión, pero no se transmitirá ningún dato que pueda llevar a la identificación de los participantes. Si usted lo desea, se le facilitará un resumen de los resultados del estudio. En tal caso, debe ponerse en contacto con alguno de los investigadores arriba citados.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL ESTUDIO: Cantidad de polen en el aire en la ciudad de Córdoba (España) y su incidencia en las alergias al polen.

INVESTIGADORES: Jesús Cebrino Cruz.

Contacto: z32cecrj@uco.es

Silvia Portero de la Cruz.

María José Barasona Villarejo.

Purificación Alcázar Teno.

Carmen Moreno Aguilar.

Eugenio Domínguez Vilches.

Carmen Galán Soldevilla.

Declaro que he leído la Hoja de Información al Participante sobre el estudio citado y acepto participar en él. He comprendido las características y el objetivo del estudio y los posibles beneficios y riesgos del mismo. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar las preguntas. Sé que se mantendrá la confidencialidad de mis datos. El consentimiento lo otorgo de manera voluntaria y sé que soy libre de retirarme del estudio en cualquier momento del mismo, por cualquier razón y sin que de ello se derive ningún tipo de repercusión.

☐ **Doy**

☐ **No doy**

mi consentimiento para la participación en el estudio propuesto.

Fecha:

Firma del/la participante:

Hacemos constar que han sido aclaradas las características y los objetivos del estudio y sus riesgos y beneficios a la persona que firma arriba. Esta persona otorga su consentimiento por medio de su firma fechada en este documento.

Fecha:

Firma del investigador principal:

CUESTIONARIO SOBRE SUJETOS CON ALERGIA AL POLEN

Los datos de la presente encuesta se utilizarán, de forma confidencial, dentro de un estudio sobre alergias al polen por parte del Departamento de Botánica, Ecología y Fisiología Vegetal de la Universidad de Córdoba.

(ID) Teléfono de contacto (Móvil/Teléfono fijo) _____

Sexo: O Hombre O Mujer

Edad: _____

Usted es alérgico a:

- | | |
|--|--|
| <input type="radio"/> Polen de olivo | <input type="radio"/> Polen de gramíneas |
| <input type="radio"/> Polen de plátano de sombra | <input type="radio"/> Polen de ortiga/ <i>Parietaria</i> |

Otros: _____

¿Ha dado positivo en anteriores controles de alergia?: O Sí O No

Instrucciones:

La terminología médica empleada en esta encuesta se refiere a los siguientes síntomas:

- **Rinitis:** picor de nariz, mucosidad, estornudos o taponamiento.
- **Conjuntivitis:** picor y enrojecimiento de ojos, lagrimeo
- **Asma:** dificultad respiratoria, ahogo, pitos o tos.

2014

Meses	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio			
Semanas	1 ^a SEM	2 ^a SEM	3 ^a SEM	4 ^a SEM	1 ^a SEM	2 ^a SEM	3 ^a SEM	4 ^a SEM	1 ^a SEM	2 ^a SEM	3 ^a SEM	4 ^a SEM	1 ^a SEM	2 ^a SEM	3 ^a SEM	4 ^a SEM	1 ^a SEM	2 ^a SEM	3 ^a SEM	4 ^a SEM
Días	1-7	8-14	15-21	22-28	1-8	9-16	17-24	25-31	1-8	9-16	17-23	24-30	1-8	9-16	17-24	25-31	1-8	9-16	17-23	24-30

[illegible][illegible]

Meses	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio			
Semanas	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM
Días	1-7	8-14	15-21	22-28	1-8	9-16	17-24	25-31	1-8	9-16	17-23	24-30	1-8	9-16	17-24	25-31	1-8	9-16	17-23	24-30

	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio			
SÍNTOMAS	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM
Rinitis																				
Conjuntivitis																				
Asma																				

	Febrero				Marzo				Abril				Mayo				Junio			
MEDICAMENTOS	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM	1ª SEM	2ª SEM	3ª SEM	4ª SEM
Antihistamínicos																				
Colirio																				
Gotas/Spray nasal																				
Inmunoterapia																				
Inhalador																				



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA